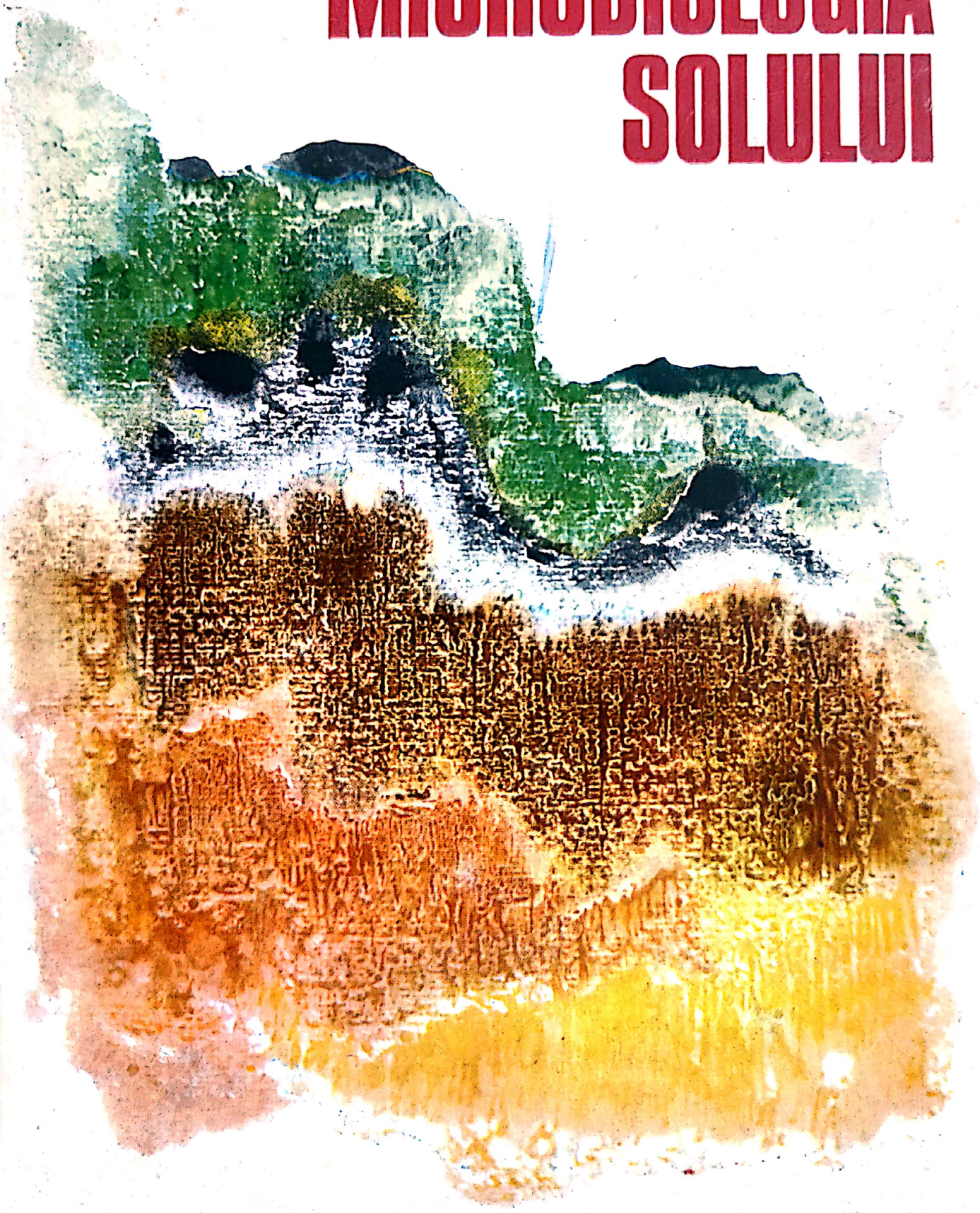
GH. ELIADE L. GHINEA GH. ȘTEFANIC

MICROBIOLOGIA SOLULUI



ÎN EDITURA „CERES“
AU APĂRUT :

CHIRIȚĂ C-TIN.
Ecopedologia

BÎLTEANU GH. Ș.A.
Memorator
pentru producția
vegetală

MĂIANU A. Ș.A.
Conservarea
și ridicarea
fertilității
solurilor în seră

MOGA I.
Cultura plantelor
suculente
pentru furaj

PINTILIE C-TIN.,
SIN GH.
Rotația culturilor
de cîmp

HORNUNG ȘT.
Cerințe față de sol
în pomicultură

CHIRILĂ CTIN. Ș.A.
Determinator
de buruieni

BERATLIEF CTIN., Ș.A.
Utilizarea bromurii
de metil
în agricultură

Scanned with OKEN Scanner

G. ELIADE • L. GHINEA • G. ȘTEFANIC
Dr. în biologie Dr. în biologie Dr. în agronomie

MICROBIOLOGIA SOLULUI

Bazele biologice ale agrotehnicii

Editura „CERES"
București
1975

Scanned with OKEN Scanner

CUVÎNT ÎNAINTE

Agricultura modernă a reuşit să obţină producţii ridicate şi de calitate superioară, folosind tot mai puţină mînă de lucru. Satisfacerea în acest fel a nevoilor alimentare ale populaţiei, eliberarea forţei de muncă din agricultură, au permis industrializarea intensă din ultimul secol. La baza acestor succese au stat printre altele şi aplicarea realizărilor geneticii vegetale şi chimiei agricole, cu multiplele sale aspecte (fertilizare, combaterea bolilor, dăunătorilor, buruienilor).

Sarcinile de viitor ale agriculturii mondiale, ca şi cele indicate de documentele Congresului al XI-lea al PCR pentru ţara noastră, sînt însă cu mult mai mari. Astfel pentru anii 1976—1980 se prevede o sporire cu 25—34% a producţiei agricole româneşti, comparativ cu media anilor 1971—1975.

Agricultura ţării noastre se va dezvolta în această perioadă într-un ritm mediu anual de 4,6—6 la sută avînd ca obiectiv satisfacerea la nivel optim a cerinţelor de consum ale populaţiei cu produse agroalimentare, asigurarea materiilor prime necesare industriei alimentare şi uşoare, crearea de disponibilităţi pentru export.

Îndeplinirea acestor sarcini complexe, de maximă importanţă pentru ridicarea nivelului de trai în România, nu este posibilă numai prin folosirea realizărilor geneticii vegetale şi chimiei agricole. Firește că din partea acestor discipline se aşteaptă noi progrese, dar alături de acestea trebuie inserate şi rezultatele practice ale altor discipline, care au ca obiect solul sau plantele. Specialistul agricol al viitorilor ani trebuie să aibă o pregătire complexă, să fie capabil a folosi cunoştinţe din toate domeniile conexe agriculturii,

Scanned with OKEN Scanner

pentru a lua decizia cea mai potrivită. Printre ştiinţele menite a servi agricultura, microbiologia solului ocupă un loc important : de activitatea microorganismelor din sol depinde intensitatea producerii şi mineralizării humusului, care la rîndul său determină pe mai multe căi cantitatea şi calitatea producţiei vegetale. Specialistul agricol trebuie să cunoască bine aceste procese, pentru a le folosi după nevoi. Deciziile cele mai potrivite nu pot fi oferite sub formă de reţete universal valabile, ci gîndite (pe baza unor cunoştinţe temeinice) pentru fiecare situaţie concretă. Cu totul alte soluţii se cer în terenurile nisipoase pentru a favoriza biosinteza humusului, comparativ cu situaţia terenurilor irigate cu ape reziduale cu mare încărcătură organică, în care ritmul mineralizărilor din sol trebuie intensificat la maxim. Aceasta este o problemă de microbiologia solului ; obţinerea unei recolte superioare de soia (sau de altă leguminoasă) este, de asemenea, o problemă de microbiologia solului, deoarece producţia maximă se obţine numai dacă s-a instalat simbioza plantei de cultură cu bacteria din genul Rhizobium, care determină formarea de nodozităţi şi fixează azotul necesar. Tot o problemă de microbiologia solului este şi reducerea efectului remanent al pesticidelor, dat fiind că aceste substanţe sînt descompuse în sol de către microorganisme.

Specialiştii ce lucrează în agricultură trebuie să cunoască, aşadar, principiile de bază după care se desfăşoară în sol viaţa microorganismelor, procesele biochimice prin care acestea asigură fertilitatea terenurilor cultivate şi necultivate. Ei trebuie să ştie, de asemenea, pe ce căi anume pot fi influenţate aceste procese. Am considerat că este util pentru inginerii agronomi, în orice ramură de activitate ar lucra, pentru specialiştii din alte domenii (biologi, medici igienişti), pentru studenţii de la facultăţile cu profil agronomic sau biologic, să dispună de o lucrare în care să fie expuse principiile de bază ale microbiologiei solului, aplicate în mod concret la terenurile ce se pot întîlni în România.

Am apreciat deci că sarcina scrierii primului tratat românesc de microbiologia solului este actuală şi rezolvabilă acum, la 70 de ani de la apariţia primei lucrări scrise de un român în acest domeniu (J. Voicu, 1906) şi cînd colectivele de la ICCPT — Fundulea, ICPA, Institutul Central de Biologie şi de la Facultăţile de Biologie din Bucureşti şi Cluj-Napoca au studiat multilateral activitatea micropopulaţiei din diferite tipuri de sol.

Am socotit util să imprimăm lucrării un caracter aplicativ, prezentînd în acelaşi timp principiile biologice ce stau la baza agrotehnicii moderne. De aceasta s-a ţinut seama atît la proporţionarea diferitelor părţi ale cărţii, cît şi la redactarea fiecărui capitol în parte.

Astfel, în cadrul capitolului I s-a introdus o amplă prezentare a biologiei şi biochimiei humusului, precum şi o expunere detaliată a fenomenului

Scanned with OKEN Scanner

de rizosferă ca sediu al celor mai importante interrelații dintre microorganisme și plantele superioare.

În cadrul capitolului II s-au expus principiile metodologice de studiere a activității microbiene a solului. În centrul expunerii a fost situat principiul ecologic al studierii micropopulației, care asigură corespondența concluziilor activității analitice cu realitatea din teren. De aceea s-a acordat un spațiu larg expunerii metodelor de determinare a respirației solului, activității exoenzimelor și efectului de rizosferă.

În partea a doua, lucrarea are un caracter pur aplicativ, fiind bazată aproape exclusiv pe experiența și rezultatele de trei decenii ale colectivului de cercetători de la Institutul de cercetări pentru cereale și plante tehnice Fundulea. Sînt tratate probleme legate de efectul afînării solului prin lucrări, asupra activității microbiene, de microbiologia solurilor cu diferite nivele de umiditate, în legătură cu nevoile sectorului irigat etc.

Se expun de asemenea interrelațiile între fertilizarea solului și activitatea microbiană a acestuia, acordîndu-se o atenție specială corectării acidității. Într-un alt capitol se tratează efectul pesticidelor asupra microflorei și descompunerea microbiană a acestora. Ultimile două capitole tratează microbiologia rotației culturilor și utilizarea biopreparatelor în agricultură.

În lucrare se citează un mare număr de publicații mai vechi sau mai noi. În lista bibliografică ce însoțește volumul se citează însă numai acele lucrări pe care le-am considerat mai utile cititorilor (bibliografia recentă, lucrările de sinteză, majoritatea bibliografiei românești consultate).

Sarcina de a redacta primul tratat românesc de microbiologia solului am considerat-o grea, dar onorantă. Ea este, firește, continuu susceptibilă la completări sau îmbunătățiri și mulțumim de pe acum tuturor celor ce vor contribui la progresul științei românești în acest domeniu.

AUTORII

Scanned with OKEN Scanner

CUPRINS

Cuvînt înainte 11

Partea întîi

PROBLEMELE GENERALE ALE MICROBIOLOGIEI SOLULUI

I. **Populaţia solului** 15

1. *Descrierea populaţiei solului* 15

1.1. Macropopulaţia 15

1.2. Micropopulaţia 18

2. *Activitatea biochimică a populaţiei solului* 24

2.1. Metabolismul energetic în sol 24

2.2. Metabolismul plastic în sol 62

2.3. Descompunerea şi recalcitranţa moleculară 85

3. *Influenţa factorilor de mediu asupra micropopulaţiei solului* 87

3.1. Efectul pH-ului asupra microorganismelor din sol 87

3.2. Temperatura şi activitatea microbiană a solului 88

3.3. Energia radiantă şi microflora 89

3.4. Compoziţia mineralogică a solului şi microflora 89

4. *Activitatea microbiană a diferitelor soluri* 90

4.1. Variaţiile sezoniere ale microflorei 91

4.2. Profilul microbian al solului 92

5. *Interrelaţii microbiene în sol* 92

6. *Interrelaţiile dintre plantele superioare şi microorganismele din sol* 94

6.1. Influenţa sistemului radicular al plantelor asupra microflorei solului 95

6.2. Vîrsta plantelor şi efectul de rizosferă 99

6.3. Rolul microflorei rizosferice în viaţa plantelor 101

Scanned with OKEN Scanner

7. *Ultramicropopulația solului* 103

II. **Principii metodologice de studiere a microorganismelor din sol** 103

1. *Principii generale* 103

2. *Recoltarea probelor de sol* 105

3. *Analiza microflorei totale a solului* 108

3.1 Analiza probelor de sol prin microscopie directă 108

3.2. Analiza probelor de sol prin metode indirecte 114

4. *Analiza grupelor de microorganisme* 120

4.1. Analiza taxonomică a microflorei solului 123

4.2. Analiza grupelor fiziologice ale microflorei solului 127

4.3. Analiza grupelor de nutriție 129

5. *Analiza activității microflorei solului* 130

5.1. Principii generale 130

5.2. Determinarea respirației solului 131

5.3. Determinarea capacității de nitrificare 135

5.4. Determinarea capacității de amonificare 137

5.5. Determinarea capacității de fixare a azotului 137

6. *Analiza activității enzimatice a solului* 137

6.1. Metodica determinării activității enzimelor din sol 139

6.2. Principalele enzime din sol 139

6.3. Originea enzimelor în sol 141

6.4. Factorii de mediu și activitatea enzimatică din sol 142

6.5. Rolul enzimelor în sol 143

7. *Analiza rizosferei* 144

7.1. Metode folosite la cercetarea rizosferei 144

7.2. Metode de determinare a efectului de rizosferă 146

Partea a doua

PROBLEMELE SPECIALE ALE MICROBIOLOGIEI SOLULUI

III. Lucrarea solului și microorganismelor 149

1. *Efectul lucrării solului asupra stării fizice* 149

2. *Lucrarea solului și microorganismele* 154

2.1. Epoca de lucrare a solului și microorganismele 156

2.2. Adîncimea de lucrare a solului și microorganismele 158

2.3. Sistemul minim de lucrări și microorganismele 172

2.4. Relația între prașilă și microorganisme 175

3. *Lucrarea de desfundare a solului și microorganismelor* 177

IV. Apa din sol și microorganismele 179

1. *Generalități* 179

2. *Conținutul solului în apă și microorganismele* 182

Scanned with OKEN Scanner

2.1. Influența umidității scăzute asupra microorganismelor 183
2.2. Influența umidității ridicate asupra microorganismelor 186
3. *Irigarea solului și microorganismele* 190
4. *Irigarea cu ape reziduale* 193
V. Influența îngrășămintelor și amendamentelor asupra micropopulației solului 195
1. *Fertilizarea cu îngrășăminte organice naturale* 195
1.1. Gunoiul de grajd 198
1.2. Urina și mustul de bălegar 205
1.3. Composturi 205
1.4. Paiele și alte resturi vegetale 206
1.5. Îngrășământul verde 211
2. *Fertilizarea minerală* 213
2.1. Fertilizarea cu azot 213
2.2. Fertilizarea cu fosfor 225
2.3. Fertilizarea cu potasiu 227
2.4. Fertilizarea cu microelemente 227
3. *Efectul corectării pH-ului solului microorganismelor* 229
VI. Substanțele fitofarmaceutice (pesticidele) și micropopulația solului 234
1. *Generalități* 234
12. *Detoxificarea solurilor tratate cu substanțe fitofarmaceutice și rolul microflorei* . . 236
2.1. Volatilizarea 236
2.2. Levigarea 237
2.3. Adsorbția 238
2.4. Descompunerea substanțelor fitofarmaceutice 242
3. *Influența substanțelor fitofarmaceutice asupra microorganismelor din sol* 270
3.1. Influența asupra bacteriilor 270
3.2. Influența asupra actinomicetelor 277
3.3. Influența asupra ciupercilor 277
3.4. Influența asupra algelor 281
3.5. Influența asupra faunei 282
3.6. Substanțele fitofarmaceutice și circulația carbonului în sol 284
3.7. Substanțele fitofarmaceutice și circulația azotului în sol 286
4. *Efectul combinat al tratării cu erbicide și reducerii lucrării solului asupra microflorei* 290
VII. Succesiunea culturilor și microorganismele din sol 297
1. *Plantele cultivate și echilibrul microbian al solului* 297
2. *Efectul rotației culturilor asupra micropopulației solului* 299
2.1. Efectul monoculturii 299
2.2. Efectul rotației culturilor 302
3. *Sistemul de cultură și starea fitosanitară* 303
3.1. Acumularea agenților fitopatogeni 304

Scanned with OKEN Scanner

3.2. Oboseala solului 305
3.3. Măsuri de însănătoşire a solului cu ajutorul microflorei antagoniste 306

VIII. Biopreparatele şi utilizarea lor în agricultură 308

1. *Biopreparatele cu bacterii simbiotice fixatoare de azot* 308
1.1. Izolarea culturilor pure, producerea şi utilizarea biopreparatului Nitragin 311
1.2. Condiţiile de care depinde reuşita tratamentului cu Nitragin 315

2. *Biopreparate cu microorganisme saprofite* 324
2.1. Biopreparatul Azotobacterin 324
2.2. Preparate cu microorganisme fotosintetizante fixatoare de azot 326
2.3. Biopreparatul Fosforobacterin 327
2.4. Biopreparatul Silicobacterin 328
2.5. Alte specii de microorganisme folosite pentru creşterea productivităţii plantelor 328
2.6. Consideraţii ecologice privind posibilitatea inocularii solului cu bacterii utile . . 328
2.7. Folosirea de metaboliţi microbieni pentru sporirea productivităţii plantelor . . 329

Scanned with OKEN Scanner

SOIL MICROBIOLOGY

BIOLOGICAL BASES OF AGROTECHNICS

CONTENTS

Foreword 11

Firts Part

GENERAL PROBLEMS OF SOIL MICROBIOLOGY

I. **Soil life** 15

1. *The organisms present in the soil* 15

1.1. Macro-organisms 15
1.2. Microorganisms 18

2. *Biochemical activity of soil organisms* 24

2.1. Energetical metabolism in soil 24
2.2. Biosinthetic metabolism in the soil 62
2.3. Microbial degradation and molecular recalcitrance 85

3. *Environmental factors and the microorganisms* 87

3.1. pH-effect 87
3.2. Temperature and soil microbial activity 88
3.3. Radiant energy and the microorganisms 89
3.4. Soil mineralogy and the microorganisms 89

4. *Life in different soil-types* 90

4.1. Seasonal variation of microorganisms 91
4.2. Microbial profile of the soil 92

5. *Microbial interrelations in the soil* 92

6. *Microorganisms-plants relationships* 94

6.1. Microorganisms in the root-system 95
6.2. Plant age and rizosphere 99
6.3. Effects of microorganisms in the root zone 101

7 *Ultramicroorganisms in the soil* 103

II. **Methodological principles for studying the soil microorganisms** 103

Scanned with OKEN Scanner

1. *Generalities* 103
2. *Soil sampling* 105
3. *Methods for examination of soil microorganisms* 108
3.1. Direct microscopy of soil microorganisms 108
3.2. Indirect methods for the study of soil microorganisms 114
4. *Microbial groups in the soil* 120
4.1. Taxonomy of soil microorganisms 123
4.2. Physiological groups of soil microbial population 127
4.3. Nutritional groups of soil microbial population 129
5. *Analysis of soil microbial activity* 130
5.1. General principles 130
5.2. Microbial respiration in the soil 131
5.3. Nitrification capacity of the soil 135
5.4. Ammonification capacity of the soil 137
5.5. Nitrogen-fixation capacity 137
6. *Enzimes in the soil* 137
6.1. Determination of soil enzymatic activity 139
6.2. The soil enzymes 139
6.3. Genesis of soil enzymes 141
6.4. Environmental factors and the soil enzymatic activity 142
6.5. The role of enzymes in the soil 143
7. *Rhizosphere analysis* 144
7.1. Methods for the rhizosphere-research 144
7.2. Methods for rhizosphere-effect 146

Second part

SPECIAL PROBLEMS OF SOIL MICROBIOLOGY

III. Soil-tillage and microorganisms 149
1. *Soil-tillage and physical conditions of soil* 149
2. *Soil-tillage and microbial population* 154
2.1. Season of soil-tillage and the microorganisms 156
2.2. Deepth of soil-tillage and the microorganisms 158
2.3. Minimum-tillage and the microorganisms. 172
2.4 Soil-hooeng and the microorganisms 175
3. *The very-deep tillage of the soil and the microorganisms* 177

IV. Soil moisture and the microorganisms 179
1. *Generalities* 179
2. *Soil moisture and microbial population* 182
2.1. Microbial population of dry-soils 183
2.2. Microbial population of wet-soils 186
3. *The irrigation and the microflora* 190
4. *Waste water in irrigation* 193

Scanned with OKEN Scanner

V. Soil fertilization and the microflora 195

1. *Orgnic fertilizers* 195
1.1. Farmyard manure 198
1.2. Urine 205
1.3. Composts 205
1.4. Vegetable refuses 206
1.5. Green manure 211

2. *Mineral fertilization* 213
2.1. N-fertilizers 213
2.2. P-fertilizers 225
2.3. K-fertilizers 227
2.4. Trace-elements as fertilizers 227

3. *Effects of soil liming on microorganisms* 229

VI. The pesticides and the soil microorganisms 234

1. *Generalities* 234

2. *The dgeradation of pesticides and the microflora* 236
2.1. Volatility of the pesticides 236
2.2. Pesticides leaching 237
2,3. Pesticides adsorbtion 238
2.4. Biological degradation of pesticides 242

3. *The influence of pesticides on soil microorganisms* 270
3.1. Soil bacteria 270
3.2. Soil actinomycetes 277
3.3. Soil Fungi 277
3.4. Soil algae 281
3.5. Soil fauna 282
3.6. Pesticides and carbon cycles 284
3.7. Pesticides and nitrogen cycles 286

4. *Herbicides-soil tillage interactions on soil microorganisms* 290

VII. Crop-rotation and soil microorganisms 297

1. *Plant cropping and soil microbial equilibrium* 297
2. *Crop-rotation and soil microorganisms* 299
2.1. Monoculture and soil microorganisms 299
2.2. Effect of crop-rotation 302

3. *The cultivation and crops diseases* 303
3.1. The multiplication of parasites 303
3.2. The soil sickness 305
3.3. Effects of microbial antagonisms 306

VIII. Microbial inoculation in agriculture 308

1. *Rhizobium in agriculture* 308

Scanned with OKEN Scanner

1.1. Isolation of Rhizobium in pure culture, production and utilization of Nitragine . 311
1.2. Conditions for a good inoculation 315
2. *Soil-inoculation with saprophytic microorganisms* 324
2.1. Azotobacter 324
2.2. Blue-green algae 326
2.3. Fosforobacterin 327
2.4. Silicobacterin 328
2.5. Other microorganisms used in agriculture 328
2.6. Ecological principles of soil inoculation 328
2.7. Microbial metabolites in agriculture 329

Scanned with OKEN Scanner

PARTEA ÎNTÎI

PROBLEMELE GENERALE ALE MICROBIOLOGIEI SOLULUI

I. POPULAȚIA SOLULUI

1. DESCRIEREA POPULAȚIEI SOLULUI

Solul constituie un mediu de existență pentru foarte multe viețuitoare, dintre cele mai felurite ca formă, dimensiuni, apartenență sistematică sau activitate biochimică.

Din cele mai vechi timpuri, oamenii au cunoscut macropopulația solului, reprezentată prin organisme vegetale și animale.

Observații îndelungate asupra solului, folosirea mijloacelor moderne puse la îndemînă de tehnica de mărire a imaginilor, din ce în ce mai perfecționată, au deschis omului posibilitatea de a cunoaște lumea microorganismelor, mult mai felurită și importantă pentru sol.

1.1. MACROPOPULAȚIA

1.1.1. Macroflora

Macroflora este reprezentată de părțile subterane ale plantelor superioare (ale plantelor agricole, ale buruienilor, arborilor, arbuștilor etc.). Acestea reprezintă cea mai importantă sursă de materie organică a solului. Rădăcinile sînt nu numai o sursă de materie organică, ci și un foarte important factor de modificare a concentrației soluției solului (prin funcția lor de absorbție), concurînd în această privință micropopulația și limitîndu-i dezvoltarea. Este însă mult mai importantă funcția stimulatoare a rădăcinilor față de micropopulație. Prin rădăcini, planta elimină numeroase substanțe, care contribuie în mod considerabil la completarea nevoii microorganismelor de substanțe bogate în energie. Sînt de asemenea eliminate substanțele necesare metabolismului azotat, vitamine și alte substanțe. Datorită acestor condiții, în jurul rădăcinilor plantelor superioare (în rizosferă), densitatea microorganismelor depășește cu mult pe cea din solul învecinat.

Scanned with OKEN Scanner

În fine, rădăcinile plantelor superioare elimină în sol enzime. După cum se va vedea, activitatea biochimică nu se realizează numai în organismele vii, ci nemijlocit şi în sol, datorită unor enzime acumulate în agregatele organo-minerale. Sursa acestor enzime o constituie toate organismele vegetale şi animale care populează solul. Plantele superioare contribuie la acumularea enzimelor în sol prin toate organele lor (tulpini şi frunze ajunse în sol, organe subterane de tot felul). Dintre toate organele plantelor, rădăcina are rolul cel mai important, atît prin enzimele eliberate în mediul extern în timpul vieţii plantei, cît şi prin ceea ce lasă în sol după moarte.

1.1.2. Macrofauna

În biologia modernă, limita dintre micro- şi macropopulaţie capătă un caracter tot mai convenţional. De aceea este greu să se stabilească care grupe de animale aparţin macrofaunei şi care microfaunei. Ni se pare mult mai exact să se vorbească despre animale pluri- şi monocelulare (respectiv, protozoare şi metazoare).

În sol, sînt reprezentate aproape toate categoriile de metazoare, cu excepţia celor mai primitive (spongieri şi celenterate). Cele mai simple sînt şi cele mai mici ca dimensiuni, putînd fi atribuite, împreună cu protozoarele, microfaunei : viermii plaţi (încrengătura *Plathelmintes*) şi cei cilindrici (încrengătura *Nemathelmintes*).

Importanţă deosebită au în special reprezentanţii încrengăturii *Nemathelmintes*, între care rotiferii (clasa *Rotatoria*), vieţuitoare mici (50 — 100 μ) cu două coroane de cili în jurul capului şi care se hrănesc cu ciuperci, protozoare, alge, dar şi cu particule de humus.

Nematozii (clasa *Nematodes*) sînt cunoscuţi mai mult ca dăunători ai culturilor agricole. Aici însă se va face abstracţie de reprezentanţii paraziţi, amintindu-se numai de rolul lor în viaţa solului.

Ei constituie clasa cea mai mare de locuitori animali ai solului (cca. 10 milioane/m^2), după protozoare (Volz, 1951). Nematozii consumă activ resturile vegetale în curs de descompunere.

O altă grupă de nematozi este specializată în consumarea altor vieţuitoare din sol (alge, ciuperci, bacterii, protozoare etc.).

Vieţuitoarele solului numără la rîndul lor duşmani temuţi ai nematozilor, fie că e vorba de alte animale, sau chiar de plante. Unele ciuperci prind nematozii într-o plasă de miceliu, consumîndu-i apoi cu ajutorul unor hife sugătoare (Drechsler, 1940; Duddington, 1951; Soprunov şi Soprunova, 1952).

Printre cele mai importante animale din sol sînt viermii inelaţi (încrengătura *Annelida*), din ordinul *Oligochaeta*, respectiv enchitreidele (familia *Enchytreidae*) şi rîmele (familia *Lumbricidae*). Rolul agronomic al rîmelor a fost semnalat de Hensen în 1877 şi demonstrat de Darwin în 1881. Numărul rîmelor variază de la cîteva sute la cîteva milioane la hectar, ceea ce înseamnă 90 — 500 kg masă vie. Rolul lor cel mai important este acela de cărăuşi ai solului, de la suprafaţă la adîncime, şi invers. Rîmele

coboară frecvent pînă la 1 — 2 m, uneori chiar pînă la pînza de apă freatică. În orizontul cu humus, ele sapă și o rețea de galerii orizontale. Omogenizarea solului realizată de către aceste animale este demnă de luat în seamă (ele pot transporta anual 30 tone de sol). Rîmele se hrănesc cu humus și resturi vegetale, precum și cu gunoi de grajd. În stomacul lor, toate acestea, amestecate, formează adevărate complexe argilo-humice (M e y e r, 1943). Prin aceste procese humusul este îmbunătățit calitativ, sporește capacitatea de reținere a apei și stabilitatea agregatelor, pH-ul, capacitatea de schimb cationic, conținutul în calciu, magneziu și fosfor asimilabil (S t ö c k l i, 1928).

Activitatea rîmelor este mai slabă în solurile îngrășate mineral (S t r e m m e, 1951), ca și în cele cultivate repetat cu cereale (M ü l l e r, 1968), sau tratate intens cu insecticide. În acest caz solul își pierde structura și resturile vegetale rămîn nedescompuse la suprafață (v a n d e W e s t e r i n g h, 1972).

Enchitreidele au un rol biologic asemănător cu al rîmelor, adică contribuie la afînarea solului (prin formarea de galerii) și la descompunerea resturilor vegetale. Dimensiunile lor sînt însă mult mai mici (5 — — 15 mm) și nu coboară în sol sub 15 — 20 cm. Enchitreidele folosesc în hrană materialul vegetal parțial descompus, în vreme ce pe cel proaspăt nu-l pot folosi (S c h m i d e r g, 1938).

Unele enchitreide se hrănesc cu nematozi, pe care îi omoară cu secrețiile glandelor salivare. Datorită acestui fenomen, plantele parazitate de nematozi se pot însănătoși spontan (J e g e n, 1920). S c h a e r f f e n b e r g și T e n d l (1951) au recomandat chiar creșterea artificială a enchitreidelor și utilizarea lor în combaterea nematozilor. După cum se știe, astăzi, mai mult ca în deceniul trecut, mijloacele de luptă biologică împotriva dăunătorilor sînt preferate celor chimice. În acest context, ideea trebuie, poate, reactualizată.

Un rol foarte important în viața solului îl joacă și reprezentanții încrengăturii *Arthropoda*. Printre aceștia, arahnidele (păianjenii) sînt importanți prin consumarea anumitor insecte din sol. Ei populează trunchiurile moarte ale arborilor, în care, prin activitatea lor predatoare, îndreaptă procesul descompunerii lemnului spre formarea de humus tip „mull", influențînd astfel favorabil pedogeneza (K ü h n e l t, 1950).

Colembolele au o răspîndire foarte mare. Toate speciile trăiesc în sol sau pe litiera de la suprafața acestuia. Ele sînt capabile de a folosi o hrană variată : resturi vegetale, ciuperci, colonii bacteriene, cadavre, excremente etc. Mărunțind materia organică, colembolele creează noi suprafețe accesibile atacului bacterian. Prin deșeurile pe care le lasă în sol (175 — 183 g/m²) contribuie la formarea humusului.

Densitatea lor în sol este reglată de specia de plantă cultivată, importante fiind leguminoasele (M ü l l e r, 1968).

Solurile adăpostesc de asemenea numeroase insecte. În solurile uscate, furnicile suplinesc rolul rîmelor, afînîndu-l prin formarea de mușuroaie cu galerii și încăperi. În solurile uscate din sudul U.R.S.S., G r i n f e l d (1941) a găsit o mare densitate de furnici. În urma acțiunii lor, pH-ul solului a crescut de la 6,5 — 6,9 la 6,8 — 7,6. Furnicile contribuie la îmbogă-

Scanned with OKEN Scanner

ţirea solului în azot (dintr-o colonie de furnici mor zilnic cca. 100 000 indivizi).

Cele mai numeroase specii de insecte din sol aparţin însă ordinului *Coleoptera*. Ele, ca şi furnicile participă la afînarea solului prin galerii şi la mărunţirea materialului vegetal. Prin deşeurile lor măresc conţinutul de azot, fosfor şi în humus din sol. Coleopterele consumă foarte multe insecte, printre care numeroşi dăunători vegetali.

Alte vieţuitoare importante din sol aparţin încrengăturii *Vertebrata*, în primul rînd, mamiferelor.

Printre acestea, insectivorele, rozătoarele şi unele carnivore îşi sapă vizuini în sol, în care aduc provizii, care îmbogăţesc solul în materie organică.

1.2. MICROPOPULAŢIA

Microorganismele din sol aparţin atît regnului animal, cît şi celui vegetal.

1.2.1. Microfauna solului

Microfauna solului este reprezentată în primul rînd de protozoare, cele mai simple animale cunoscute (monocelulare). Într-un gram de sol, ele pot depăşi un milion de indivizi, masa lor putînd atinge cca 300 kg/ha. Dintre protozoare, cele mai numeroase aparţin încrengăturii *Flagellata* (pînă la 1 milion/g sol). Ele au dimensiuni reduse (5 — 20 μ) şi forme foarte diferite. Unele prezintă pigmenţi asimilatori şi au nutriţie vegetală (autotrofă). Altele nu dispun de astfel de pigmenţi şi se hrănesc cu substanţă organică sintetizată (heterotrof). În stratul superficial al solului, unde pătrunde lumina, predomină formele cu clorofilă, iar în profunzime cele lipsite de pigment asimilator.

Foarte numeroşi în sol sînt şi reprezentanţii încrengăturii *Rhizopoda*. Caracteristica lor, cea mai bine cunoscută, o reprezintă instabilitatea corpului celular, capacitatea de a emite prelungiri citoplasmatice (denumite pseudopode), prin care se mişcă şi îşi înglobează hrana. Numărul rizopodelor este de cîteva sute de mii la un gram de sol.

Cele mai evoluate ca structură sînt protozoarele din încrengătura *Ciliata*. Aceste protozoare se caracterizează prin dimensiuni mai mari (20 — 80μ) şi prin faptul că unica celulă ce formează corpul lor are o structură foarte complicată, cu formaţii analoge mai tuturor organelor caracteristice pentru animalele pluricelulare. Ciliatele se hrănesc cu resturi organice, substanţe humice, dar şi cu bacterii, ciuperci, alge, precum şi cu alte specii de protozoare.

După cum s-a arătat mai sus, unele protozoare (dintre flagelate) posedă pigmenţi asimilatori, ca şi vegetalele superioare şi pot folosi energia radiantă. Ele nu au nevoie în hrană de substanţă organică, ci se hrănesc în mod autotrof (holofit). Majoritatea speciilor însă, nu posedă astfel de pigmenţi şi nu pot trăi în absenţa substanţei organice sintetizată anterior de organismele autotrofe. Această nutriţie heterotrofă se poate face cu

resturi organice moarte (nutriție saprofită) sau prin consumarea altor organisme vii (nutriție de tip animal sau holozoică).

Nutriția protozoarelor cu microorganisme i-a determinat pe R u s s e l și H u t c h i n s o n (1909 ; 1913) să le atribuie un rol negativ în sol. Ei au atribuit creșterea fertilității solului, după sterilizare parțială (cu apă fierbinte sau substanțe antiseptice), suprimării protozoarelor. Datele acumulate ulterior nu au confirmat acest punct de vedere. Protozoarele nu sînt suprimate în urma sterilizării parțiale a solului, iar rolul lor în sol este departe de a fi în întregime negativ.

Deși suportă uscarea solului, prin formarea unor corpi de rezistență — — chiști — protozoarele nu pot duce o viață activă decît în solul umed.

Protozoarele se dezvoltă cel mai bine în prezența unei cantități normale de oxigen liber (în condiții aerobe). Unele specii preferă însă tensiuni reduse de oxigen (specii microaerofile), altele trăiesc în absența oxigenului molecular (specii anaerobe).

Rolul protozoarelor în sol nu poate fi circumscris cu precizie. Acțiunea lor cea mai cunoscută este, cum s-a arătat, limitarea numărului altor microorganisme. Sînt cunoscute însă și alte acțiuni. Astfel, a fost descrisă (N a s i r , 1923) stimularea activității de fixare a azotului molecular de către *Azotobacter*, în prezența protozoarului ciliat *Colpidium colpoda*. Inițial s-a explicat acest fenomen prin eliminarea indivizilor mai puțin activi în fixarea azotului molecular. Astăzi se știe însă că stimularea poate fi produsă și de filtratele de cultură ale protozoarului.

Unele protozoare descompun activ celuloza. Din această categorie fac parte cele ce trăiesc în simbioză cu termitele. În sfîrșit, li se atribuie și un oarecare rol în descompunerea humusului.

1.2.2. Microflora

Microflora constituie elementul cel mai important pentru viața solului.

a. **Algele**. În sol se găsesc reprezentanți ai algelor verzi *(Chlorophiceae)*, albastre *(Cyanophiceae)*, galben-verzi *(Heterocontae)*, brune-verzi *(Chrisophiceae)* și ai diatomeelor *(Bacillariophiceae)*. Algele pot trăi autotrof în sol (în prezența unor surse de energie radiantă) sau heterotrof (în absența acesteia). Rolul cel mai important îl au în condiții de viață autotrofă, deoarece formează, în acest caz, însemnate cantități de materie organică. Ele constituie organismele-pionier, care produc pe roci primele cantități de materie organică. Prin fotosinteză produc oxigen, activînd procesele de oxidare biologică. Unele alge *(Cyanophiceae)* pot fixa azotul molecular, dar de obicei, folosesc în nutriție nitrații, și, uneori, amoniacul. Algele sînt uneori antagoniste față de bacterii, a căror dezvoltare o limitează prin producerea de substanțe antibiotice.

b. **Ciupercile microscopice** constituie grupul microorganismelor heterotrofe cu cele mai mari dimensiuni. În sol se întîlnește o mare varietate de forme fungice, aparținînd unor unități sistematice foarte diferite. După descrierea lui G i l m a n (1957), s-au izolat din sol 170 de genuri de ciuperci, reprezentînd 690 specii. Jumătate din speciile izolate aparțin

Scanned with OKEN Scanner

la zece genuri: *Penicillium*, *Fusarium*, *Mucor*, *Aspergillus*, *Achlya*, *Mortierella*, *Pythium*, *Chaetomium*, *Saprolegnia* şi *Monosporium*. Se pare că *Penicillium*, *Aspergillus* şi *Mucor* domină activitatea fungică din sol.

Consultînd lista întocmită de Gilman se poate vedea că aici nu figurează nici o bazidiomicetă. Brierley (1923) explică acesta prin faptul că metoda uzuală a plăcilor, folosită în mod curent în studiile micologice duce la apariţia acestora ca „micelii sterile" ce nu pot fi identificate. În sprijinul acestei afirmaţii, Bisby (1935) arată că dintr-un sol canadian nu s-a putut izola pe plăci nici una din cele 670 de specii de bazidiomicete existente în mod real.

Ciupercile sînt microorganisme cu un metabolism dominant aerob. Ele sînt adaptate să trăiască pe substrate cu un conţinut relativ mare în substanţă bogată în energie şi conţinut redus în azot mineral. Grupele mai evoluate au posibilitatea de a utiliza ca sursă de energie substanţe din ce în ce mai complexe.

În ceea ce priveşte posibilitatea de a folosi diferitele surse de azot pentru a-şi construi proteina, ciupercile se pot împărţi în patru grupe:

— ciuperci care folosesc azotul atmosferic, nitraţii, amoniacul şi compuşii organici cu azot;

— ciuperci care folosesc nitraţii, amoniacul şi azotul organic;

— ciuperci care folosesc amoniacul şi azotul organic;

— ciuperci care nu pot creşte decît în prezenţa compuşilor organici cu azot.

La această expunere foarte schematică, trebuie adăugat că între nutriţia cu material energetic şi cea cu azot există o strînsă interacţiune. Astfel, ciuperca *Mucor racemosus* poate folosi ca sursă de azot fie săruri nitrice, fie săruri de amoniu în prezenţa glucozei. În prezenţa glicerolului are însă nevoie absolută de azot amoniacal. În numeroase cazuri, folosirea unei surse de azot a fost suficientă pentru creştere, dar nu şi pentru fructificarea ciupercilor (Săvulescu şi Tudosescu, 1964; Ghinea, 1965). Formarea organelor de fructificare este legată de raportul între azot şi materialul energetic din sol (Carlyle, 1956).

Fixarea azotului atmosferic de către ciuperci este insuficient demonstrată şi, în urma datelor relativ mai noi, trebuie privită ca îndoielnică (Pochon şi de Barjac, 1958).

Pentru creştere, ciupercile au nevoie (în ordine descrescîndă a importanţei) de: fosfor, potasiu, magneziu, sulf.

Ciupercile utilizează bine sulfaţii (pe care-i reduc), dar preferă sulful din combinaţiile organice sau sulfuri. Microelementele sînt la fel de necesare dezvoltării acestor microorganisme.

Rolul microelementelor în metabolism a fost evidenţiat pentru prima dată de către Raulin (1896) la *Aspergillus niger*. Acesta a arătat că în lipsa zincului, metabolismul ciupercii se modifică (se declanşează un aşa-numit „shunt-metabolism"). Sînt necesare de asemenea fierul, manganul şi cuprul. Mai puţin sigură este nevoia de molibden, galiu şi scandiu, în timp ce lipsa clorului şi calciului poate fi, cu siguranţă, tolerată.

În sol, hifele se găsesc la suprafaţa particulelor şi în spaţiile libere. Hifele care sînt în contact direct cu solul diferă de cele ce traversează spaţiile cu aer. Pentru fructificarea ciupercilor, sînt necesare spaţii în sol

mai mari de 200μ (D o b b s și colab., 1960). Încă din 1938, K u b i e n a aprecia că în sol dimensiunile fructificațiilor fungice cresc pe măsura creșterii dimensiunilor porilor. Observația a fost verificată și confirmată de W a r c u p (1957). Uneori, ciupercile care trăiesc în sol fructifică la suprafața solului sau pe resturi vegetale. W a k s m a n (1927) a împărțit micoflora din sol în două categorii : ciuperci proprii solului (soil inhabiting) și ciuperci care trăiesc numai ocazional în sol, pe resturi vegetale (soil invaders). B u r g e s (1939) propune o clasificare asemănătoare : ciuperci care folosesc celuloze, lignine și humus (humus-fungi), în special bazidiomicete ; ciuperci cu germinație și creștere rapidă, care utilizează zaharuri simple (sugar-fungi), mai ales ficomicete.

În mod obișnuit, ciupercile sînt cunoscute ca preferînd mediile acide. În realitate însă, așa cum s-a demonstrat în culturi pure, cea mai bună dezvoltare are loc totuși în medii cu reacție neutră. În populații mixte cu bacteriile, ciupercile suportă mai ușor decît acestea valorile scăzute de pH și de aceea, lipsite de concurență, se dezvoltă mai bine în solurile acide.

Se știe prea puțin despre viața ciupercilor în sol, dar în orice caz, ele au o perioadă scurtă de existență, din pricina numeroșilor inamici (W a k s m a n , 1927 ; S t a r k e y, 1938 ; T r i b e , 1957 ; R u s s e l 1961).

În sol, ciupercile au un rol important în formarea structurii. Particulele de sol aderă la suprafața hifelor, formînd agregate poroase, rezistente și stabile la apă. Acizii organici (citric, tartric, oxalic) produși de către ciuperci pot avea un rol în podzolire (R u s s e l, 1950).

Ciupercile au un mare rol în descompunerea resturilor vegetale, mai ales în solurile acide. Descompunerea fungică este mai lentă decît cea bacteriană. Descompunerea resturilor vegetale are loc în mai multe stadii, fiecare cu participarea unei micoflore specifice. În primul rînd, sînt descompuse substanțele simple (zaharuri, acizi organici), cu participarea mucoraceelor. Urmează descompunerea hemicelulozelor și celulozelor de către ciupercile din genurile *Penicillium* și *Aspergillus*. În final, bazidiomicetele descompun ligninele. Într-un mod asemănător sînt descompuse și resturile animale.

Bazidiomicetele care descompun lignina, descompun, de obicei, și celuloza. Printre acestea, *Polyporus* utilizează cu precădere lignina, în timp ce *Armillaria mellea* preferă celulozele (W a k s m a n și N i s s e n , 1932).

Utilizarea ligninelor de către ciuperci condiționează capacitatea de a sintetiza și mineraliza humusul.

Ciupercile produc substanțe antibiotice, active asupra bacteriilor, ciupercilor, plantelor superioare, și chiar substanțe toxice sau cancerigene pentru animale (de exemplu aflatoxinele produse de *Aspergillus flavus* și alte ciuperci). Substanțele antibiotice sînt în general privite ca arme în competiția pentru hrană a diferitelor specii de microorganisme, caracteristice în special pentru organismele cu creștere lentă, care numai în acest fel pot concura microorganismele cu creștere explozivă, capabile să mobilizeze rapid substratul. Numeroși cercetători nu au fost de acord cu acest punct de vedere, arătînd între altele, că antibioticele nu apar în mod normal în sol, ci numai întîmplător (în condiții speciale de descompunere a resturilor organice). În plus, s-a constatat că antibioticele inhibă cel mai

Scanned with OKEN Scanner

frecvent microorganisme care nu sînt concurenţi naturali ai organismelor producătoare. Woodruff (1966) priveşte antibioticele ca metaboliţi secundari (aşa-numiţi „*shunt metabolits*"), proveniţi din concentraţii anormale ale constituenţilor celulari.

Antibioticele sînt în sol uşor inactivate pe cale biologică sau fizico-chimică. Unele microorganisme le descompun cu ajutorul unor enzime specifice, folosindu-le ca sursă de carbon şi azot (Abdel-Malek şi colab., 1961; Pramer şi Starkey, 1971).

Chiar admiţînd rolul antibioticelor în lupta pentru existenţă, trebuie să observăm că ele reprezintă o armă foarte slabă, comparativ cu capacitatea de creştere rapidă, de vreme ce nicăieri nu s-a putut observa succesul microorganismelor cu creştere lentă şi mare capacitate antibiotică în competiţie cu microorganismele dotate cu creştere explozivă. Holding (1960) constată că în toate cazurile în care se introduce glucoză în sol, creşterea populaţiei microbiene se datorează proliferării unui număr mic de specii din genul *Pseudomonas*, dotate cu creştere foarte rapidă. Galoczy (1972) conchide: „Producerea de antibiotice de către unele microorganisme nu influenţează descompunerea materiei organice din sol, aşa cum se crede uneori. Consider că nivelul de nutriţie al microorganismelor are un efect mult mai profund".

Ciupercile au în sol numeroşi concurenţi şi duşmani din rîndul microflorei şi microfaunei. În special numeroase insecte se hrănesc cu micelii fungice. Hooper (1962) a calculat că *Onychyurus armatus* poate consuma 6 metri de miceliu pe zi. Timonin (1961) a arătat că unele insecte *(Scaptoris talpa)* produc substanţe fungistatice sau chiar fungicide.

Există relaţii de antagonism şi parazitism chiar între diferitele grupe de ciuperci: corpii de fructificare ai agaricaceelor sînt parazitaţi de mucorale, fungi imperfecţi sau chiar de alte agaricacee.

Trichoderma viride este reputată în general ca un foarte redutabil antagonist pentru majoritatea ciupercilor din sol. Iniţial s-a presupus că ea produce numeroase antibiotice, dar în prezent se admite cel mai adesea un efect parazitar direct asupra unor ciuperci (mai ales ficomicete), pe care le exploatează cu haustori care pătrund în celulele gazdei, digerîndu-le conţinutul (Durrel, 1968).

Thornton (1953) stabileşte că în sol alte microorganisme colonizează hifele de ciuperci, propunînd noţiunea de „hifosferă", analogă cu „rizosferă".

c. **Actinomicetele**. În sol există şi o foarte importantă populaţie de actinomicete. Actinomicetele sînt microorganisme care fac trecerea între bacterii şi ciuperci, foarte asemănătoare acestora din urmă, dar cu miceliu ramificat format din hife mult mai subţiri. Înmulţirea lor se face fie prin fragmentarea miceliului, fie prin formarea unor organe speciale de fructificare, rezultate prin strangularea apicală a unor hife. Actinomicetele se caracterizează printr-o mare variabilitate. Din această cauză, clasificarea lor este foarte neprecisă.

Actinomicetele sînt microorganisme aerobe sau facultativ aerobe. Numărul lor poate atinge cîteva milioane la un gram de sol. Actinomicetele sînt microorganisme heterotrofe, dar au posibilităţi practic nelimitate de a ataca substanţe organice din cele mai variate şi mai greu de utilizat

(hidrocarburi, cauciuc, mase plastice etc.). Ca sursă de azot, actinomicetele folosesc nitrații, sărurile de amoniu, ureea, carbamații etc. Pot reduce nitrații, dar iau parte și la procesele de nitrificare heterotrofă (K a w a t o și S h i n o b u, 1960; 1961; H i r s c h și colab., 1961). Folosesc cu precădere în nutriție proteinele și peptonele ca și unii aminoacizi.

Actinomicetele se caracterizează prin rezistență mare la uscăciune și sensibilitate deosebită la aciditate. În sol participă activ la mineralizarea unor resturi vegetale. Descompun intens hemicelulozele, îndeosebi mananele, xilanele (W a k s m a n și D i e h m, 1931; S ö r e n s e n, 1957), și pectinele (B i l l i m o r i a și B h a t, 1961). Deși nu au o activitate celulolitică, ele influențează favorabil procesul celulolizei în sol. W a k s m a n (1959) le atribuie un rol important în mineralizarea ligninelor și legat de aceasta, în sinteza humusului. Dacă aportul în procesul humificării în sol pe calea mineralizării lignineloreste încă incert, actinomicetele participă cu siguranță la acest proces pe alte două căi: în primul rînd prin metabolizarea compușilor azotați heterociclici (K ü s t e r, 1952) și într-al doilea rînd, prin producerea de substanțe colorate care intră în compoziția humusului (chinone, carotenoizi, prodigiozină și fenoxazină). Actinomicetele sînt cele mai active organisme producătoare de antibiotice cunoscute pînă în prezent, contribuind astfel, în oarecare măsură, la echilibrul microbian al solului.

d. **Bacteriile.** Microorganismele solului, cu cele mai mici dimensiuni, dar cele mai importante ca număr și activitate biologică, sînt bacteriile. Ele sînt organisme unicelulare și se prezintă sub cele mai variate forme. Unele sînt alungite (bacili), altele, sferice (coci), în sfîrșit, altele sînt spiralate (spirili). Unele sînt imobile, altele se mișcă cu ajutorul unor cili, dispuși, fie uniform în jurul celulei microbiene (peritrihi), fie la unul sau ambele capete (polar). Înmulțirea se face prin diviziune (sciziparitate). Bacteriile din sol pot trăi autotrof sau saprofit. Unele produc forme speciale, care rezistă la condițiile nefavorabile —spori.

Bacteriile din sol (clasa *Schizomycetes*) sînt reprezentate îndeosebi de ordinele: *Eubacteriales*, *Pseudomonadales* și *Myxobacteriales*). Printre *Pseudomonadales*, o importanță deosebită o au bacteriile fotosintetizante (subordinul *Rhodobacterineae*), bacteriile nitrificatoare (*Nitrosomonas*, *Nitrobacter* etc.,), precum și bacteriile din familia *Pseudomonadaceae (Pseudomonas, Azotomonas)* și bacteriile cu rol în circulația fierului (*Gallionella*, *Ferrobacillus*, *Siderocapsa* etc.).

Printre *Eubacteriales* amintim: bacteriile fixatoare de azot din genul *Azotobacter* și cele simbiotice din genul *Rhizobium*, bacteriile din familia *Achromobacteriaceae (Achromobacter, Flavobacterium)*, cocii (familia *Micrococcaceae*), familia *Corynebacteriaceae (Arthrobacter, Cellulomonas)* și familia *Bacillaceae* (bacterii care formează spori) cu genurile: *Bacillus*, *Clostidrium* și *Plectridium*.

Printre mixobacterii se întîlnesc cele mai multe și mai active bacterii care descompun celuloza (în special din genurile *Cytophaga* și *Sporocytophaga*).

Numărul bacteriilor din sol variază de la 2 — 3 milioane la 2 — 3 miliarde la gram de sol. Considerînd volumul unei celule microbiene de

$1\mu^3$ şi densitatea ei de 1,04 (K e n d a l l , 1928), rezultă că 2 miliarde de bacterii vor cîntări 0,2% din greutatea totală a solului, adică, există aproximativ 5 — 6 tone de bacterii în stratul arabil al unui hectar de sol. Această cifră este valabilă pentru solurile cele mai bogate în bacterii. Pentru solurile obişnuite, A l e x a n d e r (1961) dă cifre variind între 0,5 şi 5 tone, R u s s e l (1950) între 2 şi 5 tone, iar K r a s i l n i k o v (1954) între 1 şi 2 tone, pentru solurile necultivate şi 5 — 10 tone, pentru solurile cultivate cu leguminoase. Masa bacteriană din sol pare a fi mai mică decît cea a miceliului fungic, dar depăşeşte pe cea a tuturor celorlalte grupe de vieţuitoare luate împreună.

Mărimea populaţiei bacteriene a unui sol, la un moment dat, este tot atît de strict limitată, ca şi cea a recoltei plantelor cultivate, ea putînd fi modificată, fie ca urmare a acţiunii unor factori naturali, fie prin intervenţia omului.

Care este factorul, sau care sînt factorii, care condiţionează dimensiunea populaţiei bacteriene din sol?

Este tot atît de greu de răspuns la această problemă, pe cît de dificil este de răspuns în cazul plantelor superioare. Aşa cum recolta plantelor superioare nu este determinată de un singur factor, tot aşa şi în cazul bacteriilor, numărul lor depinde de corelaţiile ce se stabilesc între toţi factorii naturali. Numai analiza atentă a rolului fiecărui factor în parte ne poate da un tablou just al raportului de cauzalitate care reglează relaţiile între vieţuitoarele solului.

2. ACTIVITATEA BIOCHIMICĂ A POPULAŢIEI SOLULUI

2.1. METABOLISMUL ENERGETIC ÎN SOL

Printre factorii care reglează densitatea populaţiei microbiene a solului, fără îndoială, un rol important îl deţine sursa de energie. „Principalul factor care limitează creşterea bacteriilor în sol este sărăcia hranei, adică lipsa unei surse de energie convenabilă " (C l a r k , 1967). Pentru plantele superioare, sursa de energie nu este niciodată un factor limitativ, deoarece ele pot folosi energia luminoasă radiată de către soare. În aceeaşi situaţie sînt şi algele, precum şi foarte puţine bacterii şi protozoare flagelate, care posedă pigmenţi asimilatori.

Cea mai mare parte a microorganismelor nu posedă însă astfel de pigmenţi, de aceea nu pot folosi decît energia chimică înmagazinată în diferite substanţe. Un număr restrîns dintre acestea folosesc ca sursă de energie substanţe anorganice pe care le oxidează. Acestea, ca şi organismele asimilatoare, nu folosesc energia chimică provenită din oxîdarea substanţelor organice. Toate organismele capabile să-şi procure energia necesară fără utilizarea substanţei organice dinainte sintetizată formează grupul mare al organismelor autotrofe.

Organismele care nu pot folosi ca sursă de energie decît energia chimică înmagazinată în substanţa organică se numesc heterotrofe.

Scanned with OKEN Scanner

2.1.1. Energeza autotrofă

Toate organismele autotrofe înmagazinează energia în substanța organică proprie, pe care o sintetizează prin reducerea bioxidului de carbon. În fotosinteza plantelor verzi, reacția energetică cea mai importantă este descompunerea (fotoliza) apei în prezența clorofilei, cu ajutorul a 4 cuante de energie luminoasă consumată pentru fiecare moleculă de apă. Hidrogenul din apă reduce apoi bioxidul de carbon, în timp ce oxigenul este eliberat sub formă moleculară.

Fotosinteza necesită participarea unei enzime ce conține fier neheminic — ferredoxina. Această enzimă are un rol central și în alte procese importante ca : fixarea biologică a azotului, reducerea nitraților. B o t h e (1969) a demonstrat că rolul ferredoxinei poate fi preluat, la alga *Anacystis nidulans*, de o enzimă fără fier (fitoflavina). Ea apare în cazul carenței fierului și absenței ferredoxinei.

C a l v i n (1954) a sugerat că reacția esențială în fotosinteză este acceptarea bioxidului de carbon de către ribulozo — difosfat trecînd prin treapta intermediară a unui cetoacid instabil cu 6 atomi de carbon și formarea acidului fosfogliceric.

Microorganismele capabile de a-și procura energia necesară prin fotosinteză se numesc *fototrofe*. Microorganismele autotrofe care-și procură energia prin oxidarea substanțelor organice se numesc *chimiotrofe*.

În fotosinteza bacteriană nu se produce oxigen (ca în cazul plantelor superioare și al algelor verzi). Deci procesul nu are loc prin fotoliza apei, ci prin utilizarea altei substanțe care cedează hidrogen (donator de hidrogen).

După v a n N i e l (1941), bacteriile capabile de fotosinteză se împart în :

— bacterii sulfuroase purpurii *(Thiorhodaceae* și *Chromatioideae)* care folosesc ca donator hidrogenul sulfurat :

$$CO_2 + {}_2H_2S \longrightarrow CH_2O + H_2O + {}_2S$$

— bacterii sulfuroase verzi, care folosesc tot hidrogen sulfurat ca donator de hidrogen. Oxidarea hidrogenului sulfurat are o mare importanță practică, deoarece el este toxic pentru plantele superioare.

În cazul acestor microorganisme, în urma fotosintezei nu se formează oxigen, ci sulf. Întrucît fotoliza hidrogenului sulfurat este mai ușor realizată, în acest proces se utilizează numai o singură cuantă de lumină.

— bacteriile nesulfuroase purpurii *(Athiorhodaceae* și *Rhodobacteroideae)* folosesc ca donator de hidrogen acizi grași simpli și alcooli. Ele fac astfel trecerea între microorganismele autotrofe și heterotrofe.

Printre bacteriile chimioautotrofe, numeroase grupe sînt de asemenea implicate în transformările sulfului.

— sulfobacteriile, care-și procură energia prin oxidarea mai întîi a hidrogenului sulfurat, pe care-l transformă în sulf (acesta rămîne sub formă de granule în corpul bacteriei), apoi a sulfului în sulfați ;

$$_2H_2S + O_2 \longrightarrow {}_2S + {}_2H_2O$$
$$_2S + {}_3O_2 + {}_2H_2O \longrightarrow {}_2H_2SO_4$$

— alte sulfobacterii oxidează tiosulfaţii :

$$_5Na_2S_2O_3 + {}_4O_2 \xrightarrow{+\,H_2O} {}_5Na_2SO_4 + H_2SO_4 + {}_4S$$

Unele microorganisme din această grupă *(Thiobacillus denitrificans)* trăiesc în condiţii de anaerobioză şi folosesc ca oxidanţi — nitraţii. În acest fel au loc în sol pierderi de azot mineral :

$$_5Na_2S_2O_3 + {}_8KNO_3 + {}_2Na\,HCO_3 \longrightarrow {}_6Na_2SO_4 + {}_4K_2SO_4 + {}_4N_2 + {}_2CO_2 + H_2O$$

Unele grupe de microorganisme pot trăi autotrof pe seama energiei obţinute din oxidarea fierului, în timp ce autotrofia bacteriilor care oxidează manganul, seleniul şi arsenul rămîne încă de demonstrat.

Bacteriile chimiotrofe cele mai importante din punct de vedere agricol sînt însă bacteriile nitrificatoare. În cadrul micropopulaţiei solului, numai un număr foarte restrîns de specii microbiene sînt capabile să oxideze amoniacul la nitriţi :

$$NH_3 + O_2 \longrightarrow HNO_2 + H_2$$

Compusul intermediar s-a dovedit a fi hidroxilamina. (Reacţia este catalizată de o enzimă ce conţine cupru).

Stadiul următor ar putea fi formarea hiponitritului, nitroxilului sau a nitramidei. Mai probabil este că hidroxilamina reacţionează cu acidul nitros, producînd nitrohidroxilamină şi hidrogen reducător, care reduce un compus cu fosfor din organism — piridinnucleotidul —, astfel încît în corpul microbian se acumulează energie. Nitrohidroxilamina se oxidează producînd două molecule de acid nitros. Hidrogenul rezultat este folosit pentru reducerea bioxidului de carbon :

$$_2H_2 + CO_2 \longrightarrow CH_2O + H_2O$$

Microorganismele care realizează acest proces sînt strict autotrofe. Ele nu numai că nu au nevoie de substanţă organică, dar nu suportă în mediul de cultură astfel de substanţe, decît în concentraţii foarte mici. Situaţia este desigur alta în sol sau în gunoiul de grajd, în care există numeroase alte microorganisme şi au loc o serie de alte procese microbiene. În ultimii ani a fost descrisă şi o nitrificare realizată de către microorganisme heterotrofe, dar ponderea ei în sol este neînsemnată (exceptînd solurile acide).

Microorganismele care oxidează amoniacul sînt de asemenea foarte pretenţioase la lipsa de oxigen. De aceea randamentul nitrificării este maxim numai în solurile bine aerate. Deoarece ele folosesc însă ca sursă de carbon bioxidul de carbon, lipsa acestuia, este resimţită mai puternic chiar decît a oxigenului (Harmsen şi van Schreven, 1955; Beard şi Clark, 1962).

Nitriţii formaţi de către nitrit-bacterii sînt toxici pentru plante. Ei nu rămîn însă ca atare în sol, ci sînt oxidaţi de către nitrat-bacterii,

la nitrați. Oxidarea nitriților la nitrați poate fi inhibată în solurile alcaline, caz în care are loc o acumulare a nitriților. Acumularea de nitriți are loc și în solul înghețat.

Alte microroganisme chimiotrofe oxidează hidrogenul molecular. Este vorba în acest caz de autotrofi facultativi. Dintre aceștia:

— *Hidrogenomonas* folosește ca acceptor de hidrogen, oxigenul:

$$H_2 + 1/2\ O_2 \longrightarrow H_2O$$

— *Sporovibrio desulfuricans* folosește ca acceptor de hidrogen sulfații avînd o acțiune negativă în sol, prin formare de sulfuri toxice:

$$_4H_2 + CuSO_4 \longrightarrow H_2S + Cu(OH)_2 + {}_2H_2O$$

— *Methanobacterium omelianskii* folosește ca acceptor bioxidul de carbon, ca și plantele fotosintetizante. Reacția producătoare de energie decurge astfel:

$$_4H_2 + CO_2 \longrightarrow CH_4 + {}_2H_2O$$

Energia rezultată din reacție este utilizată la fixarea bioxidului de carbon în zaharuri și alți constituenți celulari.

Alte microorganisme, facultativ autotrofe, oxidează bioxidul și oxidul de carbon.

De o atenție deosebită se bucură în ultimul timp bacteriile care oxidează hidrocarburile (bacteriile metanice), grup intermediar între organismele autotrofe și cele heterotrofe. Ele folosesc îndeosebi hidrocarburile parafinice, pînă în prezent puțin valorificate la exploatarea petrolului. Experiențe mai recente au arătat că, prin fermentarea microbiană, din hidrocarburile parafinice se pot obține proteine microbiene cu valoare alimentară ridicată.

2.1.2. Energeza heterotrofă

Organismele heterotrofe, reprezentînd cea mai mare parte a microorganismelor, își procură energia prin oxidarea materiei organice sintetizată de către organismele autotrofe, care folosesc în acest scop energia solară.

Principalele substanțe utilizate ca sursă de energie de către microorganismele heterotrofe sînt substanțe ce conțin numai carbon, hidrogen și oxigen (glucide, grăsimi, acizi organici).

Zaharurile care conțin un număr redus de atomi de carbon (de regulă 5 — 6), așa-numitele monozaharide, pot fi ușor folosite în metabolismul energetic (mai ales monozaharidele cu 6 atomi de carbon).

Dizaharidele, formate prin cuplarea a două molecule de monozaharide, trebuie în prealabil descompuse pînă la monozaharide. Acest proces este realizat de un număr foarte mare de microorganisme.

Mai dificilă este metabolizarea polizaharidelor formate prin polimerizarea unui număr mare de molecule de monozaharide. În metabolismul acestor compuși intervin succesiv numeroși catalizatori organici (enzime).

Scanned with OKEN Scanner

Deoarece multe polizaharide nu pot pătrunde ca atare în celula microbiană, bacteriile secretă în exterior enzime, care scindează polizaharidele în molecule mai mici, metabolizate apoi intracelular. În acest fel este descompus amidonul :

$$\text{Amidon} \xrightarrow[\text{extracelulare}]{\text{amilaze}} \text{maltoză} \xrightarrow{\text{maltază}} \text{glucoză}$$

sau celuloza :

$$\text{Celuloza} \xrightarrow[\text{extracelulare}]{\text{celulaze}} \text{celobioză} \xrightarrow{\text{celobiază}} \text{glucoză}$$

Pentru utilizarea fiecărui zahar, microorganismul respectiv trebuie să fie dotat cu enzima capabilă a-l descompune. Enzimele capabile să descompună mono- şi oligozaharidele sînt foarte răspîndite în lumea microbiană. Enzimele capabile să descompună polizaharidele se întîlnesc mult mai rar în echipamentul enzimatic al diferitelor specii de microorganisme.

Prin oxidarea substanţelor organice, organismele heterotrofe îşi însuşesc cantităţi mari de energie. Utilizarea acesteia impune două condiţii :

— eliberarea energiei în mod continuu şi în cantităţi mici. Eliberarea bruscă a unei cantităţi mari de energie, nu numai că n-ar permite utilizarea ei eficientă, dar ar pune în primejdie însăşi buna funcţionare a mecanismelor prin care se asigură viaţa celulei ;

— stocarea energiei.

a. **Metabolismul glucozei.** Un exemplu clasic de îndeplinire a ambelor condiţii expuse mai sus, îl reprezintă metabolizarea glucozei, care se desfăşoară într-un lanţ lung de procese, energia produsă fiind reţinută în compuşi speciali fosforilaţi, aşa-numiţii „macroergici". De aceea, în organisme are loc o fosforilare oxidativă, prin care moleculele de acid fosforic se cuplează cu acidul adenozinmonofosforic (AMP), care se transformă în acid adenozindifosforic (ADP) şi apoi în acid adenozintrifosforic (ATP), îmbogăţindu-se în acelaşi timp în energie. Atunci cînd nevoile metabolice ale organismelor o cer, are loc desprinderea moleculelor de acid fosforic din ATP, formîndu-se ADP şi AMP cu eliberarea energiei corespunzătoare.

Iniţial glucoza se fosforilează la al şaselea atom de carbon formînd un ester fosforic (hexozomonofosfat). Acesta poate servi atît la sintetizarea unor substanţe organice proprii corpului microbian, cît şi în metabolismul energetic. În acest al doilea caz, printr-o serie de reacţii el este scindat în două molecule avînd fiecare trei atomi de carbon şi care se transformă ulterior în acid piruvic. Aceasta este principala cale prin care toate organismele heterotrofe obţin energia necesară (calea „Embden-Meyerhof").

Acidul piruvic format poate fi descompus fie aerob, fie anaerob în ambele cazuri cu participarea mai multor enzime la care un rol important îl joacă ionii de magneziu.

În afara căii „Embden-Meyerhof" mai există şi calea secundară a hexozomonofosfaţilor, aşa-numita cale „Warburg-Dikens-Horeker". În

biochimie, o asemenea cale secundară de metabolism este cunoscută sub termenul de „shunt".

O altă cale secundară a metabolismului energetic, specifică unor specii de ciuperci și bacterii este calea „Entner-Doudouroff" (G o t t l i e b, 1963).

În celulele microbiene, ca și în alte organisme, acidul piruvic parcurge așa-numitul „ciclu Krebs", prin care se poate oxida complet pînă la bioxid de carbon și apă, grație intervenției a zece enzime diferențiate. În cursul ciclului lui Krebs se formează printre altele acizii : piruvic, acetic, citric, succinic, malic.

O c h o a și colab. (1951) a precizat că prin oxidarea acidului piruvic se produc 15 molecule ATP.

Respirația microbiană. Sintetizînd într-o formulă foarte generală atît producerea de substanțe organice prin fotosinteză, cît și utilizarea lor în metabolismul heterotrof, cele două reacții de care depinde viața ar fi :

$$_nCO_2 + {}_nH_2O \xrightarrow[\text{solară}]{\text{energie}} (HCHO)_n + {}_nO_2 \quad \text{(fotosinteză)}$$

$$(HCHO)_n + {}_nO_2 \longrightarrow {}_nCO_2 + \text{energie}$$

Totalitatea proceselor biochimice prin care celulele tuturor organismelor își obțin energia necesară activității lor vitale se numește respirație.

Inițial noțiunea de respirație a fost legată de absorbția de oxigen. În prezent se cunosc numeroase procese oxidative-respiratorii, care se desfășoară în absența oxigenului.

Astăzi prin termenul de oxidare, în chimie se înțeleg trei procese :

— adiția de oxigen ($C + O_2 \longrightarrow CO_2$)

— pierderea de hidrogen ($CH_3-CH_3 \longrightarrow CH_2 = CH_2 + {}_2H$)

— cedarea de electroni ($CuCl \longrightarrow CuCl_2$ în care : $Cu^+ \longrightarrow Cu^{++}$). Electronii sînt acceptați de o altă substanță, care se reduce concomitent.

De aceea, astăzi se vorbește în chimie de procese de oxido-reducere.

O importanță deosebită o au procesele oxidative realizate prin cedare de hidrogen, cale imaginată de către P a l l a d i n și aprofundată de către W i e l a n d, T h u n b e r g și M i c h a e l i s. Aceste procese sînt realizate de enzime specifice, care transportă hidrogenul de la substrat la acceptor și care din această cauză sînt denumite dehidrogenaze (dehidraze).

Oxidarea prin adiție de oxigen necesită enzime specifice care să activeze oxigenul.

Din cele arătate mai sus, rezultă că în cursul oxidărilor, electronul și protonul hidrogenului se transportă pe căi deosebite. De aceea, activitatea dehidrogenazelor nu este legată de prezența oxigenului. Din acest punct de vedere, se deosebesc dehidrogenaze aerobe, pentru care oxigenul este singurul acceptor de hidrogen și anaerobe, care folosesc un alt substrat.

Respirația este deci posibilă atît în prezența, cît și în absența oxigenului liber. Din acest punct de vedere, se disting microorganisme aerobe și anaerobe. Pentru alte microorganisme, prezența oxigenului este mai mult sau mai puțin indiferentă. Acestea sînt microorganismele facultativ aerobe.

Scanned with OKEN Scanner

Unele microorganisme preferă tensiuni scăzute de oxigen-microorganisme-microaerofile.

În cazul respiraţiei aerobe are loc formarea unor compuşi puternic oxidaţi (peroxizi, în primul rînd apa oxigenată) toxici pentru toate organismele. În cazul organismelor aerobe însă, peroxizii sînt descompuşi pe măsura formării lor de către două enzime (catalaza şi peroxidaza). Microorganismele care nu posedă aceste enzime sînt intoxicate de peroxizii formaţi.

După cum se vede, în cursul respiraţiei participă numeroase enzime. Unele dintre acestea au ca grupări active compuşi organici (flavine, piridinnucleotide), altele, ioni metalici (fier, cupru). În respiraţie participă şi oxidaza acidului ascorbic (vitamina C) şi o serie de enzime care oxidează fenolii (mono-, di- şi polifenoloxidaze). Aceste ultime enzime, spre deosebire de toate celelalte, sînt capabile să preia oxigenul (pe care-l încorporează în substrat), direct din rezerva de oxigen gazos şi nu din substanţele oxidate.

Respiraţia aerobă este un proces termodinamic foarte eficient (randament în jur de 70%), spre deosebire de cea anaerobă. În acest al doilea caz are loc o redistribuire a oxigenului din moleculă. Un astfel de proces se numeşte de obicei fermentaţie.

O comparaţie a metabolismului aerob şi anaerob al glucozei se poate face din cele două ecuaţii de mai jos, în care s-a luat exemplul comun al fermentaţiei alcoolice :

Utilizarea aerobă: $C_6H_{12}O_6 \xrightarrow{6O_2} 6CO_2 + 6H_2O + 674$ Kcal.

Utilizarea anaerobă: $C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2C_2H_5OH + {}_2CO_2 + 24$ Kcal.

În al doilea caz se eliberează o cantitate mult mai mică de energie, deoarece o mare parte a acesteia rămîne în moleculele de alcool şi va fi eliberată prin oxidarea aerobă a acestuia. Prin urmare, cea mai mare parte de energie se eliberează în partea finală a oxidărilor, care asigură fixarea hidrogenului scos din substrat de dehidrogenaze, pe atomul de oxigen (P e r s i n şi N e s v a d b a , 1955).

Se afirmă în general că microorganismele pot utiliza în metabolism orice substanţă care prin descompunere generează energie. Această opinie nu este întru totul justă, deoarece azi se cunosc numeroase substanţe nebiodegradabile ca mase plastice, detergenţi, pesticide. Această problemă va fi expusă amănunţit în capitolul privind descompunerea substanţelor fitofarmaceutice, dar pentru moment se poate considera aserţiunea de mai sus ca aproximativ exactă. Este momentul să se reamintească aici că energia obţinută în metabolism se stochează în compuşi fosfaţi macroergici. Pentru cuplarea unei molecule de fosfat la AMP sau ADP sînt însă necesare 8,5 Kcal/mol, la care se adaugă pierderile inevitabile la transformare (conform celui de al doilea principiu al termodinamicii), adică un total de circa 15 Kcal/mol. Deci pentru ca o reacţie să poată întreţine viaţa, trebuie ca valoarea energiei ce iese din reacţie să fie cu 15 Kcal/mol mai mare decît valoarea energiei cerute de reacţie.

D e l w i c h (1967) propune un sistem de clasificare a reacţiilor prin care organismele îşi procură energia (tab. 1).

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 1

Clasificarea reacțiilor energetice (după D e l w i c h , 1967)

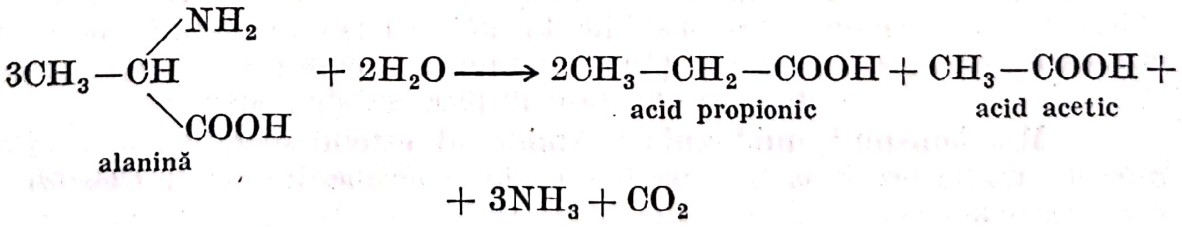
Categoria reacției	Donor de electroni	Acceptor de electroni	Produși rezultați
Fotoautotrofe	H_2O ; H_2S ; H_2R	CO_2	Compuși organici reduși
Respirație în „sens strict".	Compuși organici	O_2	$CO_2 + H_2O$
Reacții homofermentative	Idem	Aceleași molecule organice sau fragmentele lor	Compuși organici + $+CO_2$ (uneori)
Reacții heterofermentative	Idem	Idem	Amestec de compuși organici
Reacții multifermentative	Idem	Un alt compus organic sau CO_2	Compuși organici
Reacții izofermentative	Idem	Altă moleculă de substrat	Compuși organici reduși și oxidați
Reacții metafermentative	Idem	Compus anorganic	Compus organic sau CO_2+ H_2O, compuși anorganici reduși
Reacții chemoautotrofe	Compus anorganic	O_2 sau alt compus anorganic	Compus anorganic oxidat

Ca tip de reacție homofermentativă vom lua din nou fermentația alcoolică, în care are loc o redistribuire a oxigenului în molecule de glucoză, formîndu-se alcool etilic și bioxid de carbon.

Tipul reacției heterofermentative este transformarea glucozei de către streptococi în acid lactic și alți produși secundari de reacție (acid formic, acid acetic, alcool etilic).

O reacție multifermentativă tipică este reacția Stickland în care un aminoacid se oxidează, iar altul se reduce.

Reacția izofermentativă tipică este produsă, ca și precedenta, de *Clostridium sporogenes* :



O reacție metafermentativă tipică este denitrificarea, în care glucoza este donorul de electroni, iar nitratul-acceptor.

În cursul fermentațiilor se formează o largă gamă de produși. Pe această cale, industria fermentativă realizează numeroase substanțe utile.

Pentru viața solului însă, un rol însemnat îl joacă fermentația alcoolică, citrică și butirică. Aceste fermentații constituie verigi importante în transformarea zaharurilor în sol, în primul rînd al glucozei. Reacțiile

acestea sînt implicate în procesul de humificare și în cel de fermentare a gunoiului de grajd.

O importanță deosebită o are și oxidarea alcoolului etilic la acid acetic, proces care are loc în condiții de aerație intensă. În mod excepțional însă, *Escherichia coli* produce acid acetic din dextroză în condiții de anaerobioză. În acest caz se formează concomitent acid lactic, alcool etilic, bioxid de carbon și hidrogen.

b. **Metabolismul acizilor organici.** În sol există diferiți acizi organici, produși sub acțiunea microorganismelor sau proveniți din resturi vegetale și animale, exsudate radicelare etc. În cantități importante apar însă numai acidul acetic și formic. Stevenson și Katznelsohn (1958) au demonstrat că acidul acetic este un produs intermediar de descompunere a materiei organice a solului. Odată format, acesta este folosit în parte ca sursă de energie (25 — 30%), iar restul intră în compoziția humusului.

În general, acizii organici sînt repede metabolizați în sol, cu excepția acizilor grași cu catenă lungă, greu solubili și puternic adsorbiți pe complexul coloidal al solului.

În legătură cu producerea de acizi organici în soluri, o veche teorie a lui Schreiner (1907) a atribuit acestui fenomen toxicitatea unor soluri pentru plantele superioare. El a considerat că agentul toxic ar fi acidul dihidrostearic, care apare în paie alături de acidul salicilic și vanilină. Acești acizi, împreună cu acidul alfa crotonic ar fi răspunzători de efectul nefavorabil al îngrășării cu paie, fenomen întîlnit frecvent în culturile de porumb, orez, soia, grîu și trestie de zahăr din solurile subtropicale. Acizii organici sînt descompuși mai lent în solurile bogate în humus, datorită reținerii în complexul coloidal. Acizilor organici li s-a atribuit un rol important în procesul de solificare. Astfel Webley și colab. (1963) arată că o mare parte din microorganismele ce cresc în crăpăturile stîncilor golașe solubilizează silicații prin producerea acidului oxalic (ciupercile) sau a acidului 2-cetoglutaric (bacteriile). Concomitent, unii acizi organici produc reacții de chelatare, care au o importanță deosebită în dislocarea rocilor. Reacțiile de chelatare (Jackson și Sherman, 1953) sînt de asemenea responsabile de spălarea ionilor metalici pe profil. Swindle și Jackson (1956) denumesc acest proces „cheluviere" și consideră că el are un rol important în procésul de podzolire.

c. **Metabolismul amidonului.** Amidonul este descompus de o floră microbiană nespecifică, în care bacteriile anaerobe din genul *Clostidrium* sînt foarte active.

d. **Metabolismul celulozei.** Celuloliza ocupă în sol un rol central printre procesele energetice, datorită în primul rînd faptului că celuloza, implicată în acest proces, este principalul constituent al resturilor vegetale.

Deși celuloliza este apanajul unui număr redus de forme microbiene, acestea au o poziție sistematică foarte variată : bacterii (*Cellvibrio*, *Cellfalcicula*, *Cellulomonas*, *Sorangium*, *Polyangium*, *Angiococcus*, *Cytophaga*, *Sporocytophaga*), ciuperci (ascomicete, bazidiomicete și multe ciuperci imperfecte), uneori și actinomicete.

Unele specii sînt aerobe, altele sînt anaerobe. Printre microorganismele celulolitice, unele sînt termofile, dar cele mai multe, mezofile. Cîteva specii trăiesc în simbioză cu diferite animale (insecte și chiar mamifere).

Bacteriile celulolitice termofile au o importanță redusă în sol, dar determină procese importante în gunoiul de grajd. Aceste specii sînt răspunzătoare în mare parte de „încingerea" produselor vegetale. Repartiția microorganismelor celulolitice este în primul rînd determinată de aerație : în solurile afînate, celuloliza se petrece aerob și este mai activă ; dimpotrivă, în solurile slab aerate are loc o slabă celuloliză anaerobă.

Celuloliza are loc în sol de îndată ce umiditatea depășește punctul de ofilire și este maximă la 60% din capacitatea pentru apă (Maciejowska și Williams, 1963).

Există și o repartiție sezonieră a microorganismelor celulolitice : primăvara cînd temperatura este scăzută, domină bacteriile din genul *Cellvibrio*, în prima parte a verii, dominante sînt ciupercile, apoi speciile care domină celuloliza sînt mixobacteriile (*Cytophaga* și *Sporocytophaga*). În general se consideră că ciupercile determină celuloliza în solurile acide, iar bacteriile, în cele neutre.

S-a constatat că celuloza pură este mai rapid mineralizată decît cea încrustată cu diferiți produși. De aceea, parenchimul vegetal este mai repede descompus decît sclerenchimul și xilemul, puternic încrustate cu lignină (Kononova, 1961). Totuși, asocierea cu hemiceluloze face celuloza mai sensibilă la atacul microbian. Chiar asocierea cu lignină provoacă o descompunere mai rapidă în prezența unei ciuperci capabile să descompună activ această din urmă substanță (Handley, 1954 ; Warcup, 1959).

Celuloza este descompusă în sol de un complex enzimatic extracelular. Din acest complex, celulaza C_1 acționează asupra celulozei cristaline, creînd posibilități de acțiune pentru β-1,4 glucanază. Celobioza ce rezultă este absorbită de microorganisme și în interiorul celulei este scindată de celobiază. Celulazele sînt enzime constitutive pentru mixobacterii și adaptative pentru alte microorganisme, la care sînt induse de celobioză. Aceste enzime pot fi în unele cazuri blocate de glucoză, *D. L. asparagină*, extract de drojdie, chiar în concentrații foarte slabe (Bravery, 1968).

Prin descompunerea celulozei, în sol iau naștere zaharuri simple. Microflora solului sintetizează, pornind de la acestea, numeroase substanțe mucilaginoase, care intră în compoziția materiei organice a solului. Randamentul de utilizare a energiei în celuloliză este destul de ridicat, circa 30%, fiind mai mare la ciuperci decît la bacterii.

e. **Metabolismul hemicelulozelor.** Dintre hemiceluloze, galactanele sînt cele mai rezistente la atacul microbian, în timp ce xilanele și mananele dispar repede din sol, fiind descompuse de o microfloră nespecifică. Viteza de descompunere a acestor substanțe depinde în principal de cantitatea de azot accesibil.

f. **Metabolismul pectinelor.** Pectinele sînt polimeri ai acidului D-galacturonic, esterificat cu metanol. În sol, ele sînt descompuse cu ajutorul unei pectinmetilesteraze eliberată de o microfloră nespecifică. Enzima se găsește la circa 2% din microorganismele solului.

Scanned with OKEN Scanner

g. **Metabolismul chitinei.** Chitina este un polimer al N-acetil-glucozaminei şi este descompusă în sol de către actionomicete şi unele bacterii.

h. **Metabolismul fenolilor.** În sol, substanţele de tipul fenolilor sînt descompuse oxidativ sau printr-o condensare oxidativă, proces destul de puţin cunoscut, implicat în sinteza substanţelor humice. Adoptarea uneia sau alteia dintre aceste două căi depinde în ultimă instanţă de gradul de aerare a solului şi de aprovizionarea cu substanţă organică mai uşor de descompus (K u n c şi K s t y k, 1974).

Fenolii determină în sol fenomenul de alelopatie. Astfel, cumarina produsă de numeroase specii vegetale, în proporţie de cîteva părţi la un milion, inhibă multe plante cultivate.

i. **Metabolismul lignînelor.** Descompunerea lignînelor are o importanţă deosebită pentru circulaţia carbonului, întrucît aceasta reprezintă a doua sursă a acestui element în natură (25—30% din corpul plantelor lemnoase şi 15 — 20% din cel al plantelor ierboase). Ligninele constituie totodată compusul vegetal cel mai rezistent. Din acest motiv ele se acumulează continuu în sol. Ligninele au o compoziţie chimică insuficient elucidată, dar se ştie că sînt polimeri ai fenilpropanului, avînd o structură complexă, reticulată, care cere o mare cantitate de energie pentru a fi ruptă (K l e i n h e m p e l, 1972).

Descompunerea ligninei este de obicei realizată de către bazidiomicete (îndeosebi din ordinul *Agaricales*) sau de către asociaţii de ascomicete şi ciuperci imperfecte. Randamentul ligninolizei este ridicat numai în cazul cînd acţionează bazidiomicetele. În anaerobioză, agenţii ligninolizei sînt însă bacteriile.

Descompunerea ligninei nu duce la acumulări de energie, ci la mici pierderi de material energetic, asemănător proceselor endoterme (R ä s c h, 1961). Optimum de umiditate al ligninolizei este la 70% din capacitatea pentru apă a solului. Alternarea perioadelor de secetă şi umiditate are un efect favorabil asupra descompunerii ligninei. Agenţii specifici ai ligninolizei nu se pot dezvolta decît în prezenţa unor concentraţii relativ mici de azot mineral în sol.

j. **Metabolismul taninurilor, lipidelor şi al cutinei.** Taninurile sînt descompuse în special de către ciupercile din genurile *Penicillium* şi *Aspergillus* (S t a p p şi B o r t e l s, 1935). În cazul cînd ating anumite concentraţii în sol, ele au o acţiune antimicrobiană. Lipidele sînt hidrolizate cu uşurinţă de către microorganisme. Cutina este descompusă de bacterii din genul *Pseudomonas.*, dar în ritm lent (H a n k i n şi K o l a t t u k u d y, 1971).

2.1.3. Substanţa organică a solului

a. **Rolul substanţelor organice în viaţa solului.** Substanţa organică a solului reprezintă un amestec extrem de complex de materiale din cele mai diferite ca origine şi structură chimică. Rolul său este covîrşitor în determinarea activităţii biologice a solului, ca şi a fertilităţii acestuia. În tabelul 2 se dau după F l a i g (1973), ţinînd seama de opiniile lui K o n o n o v a (1961), P r a t şi R y p a c e k (1962), C h a m i n a d e (1966), D o m m e r g u e s şi M a n g e n o t (1970), principalele componente ale substanţei

organice a solului și funcțiile lor. Stadiul actual al cunoștințelor noastre în acest domeniu este departe de o cunoaștere completă a problemei și, în consecință, în viitorii ani acest tablou se va schimba în mare măsură.

Tabelul 2

Principalii componenți ai materiei organice a solului și rolul lor

Substanța	Acțiunea determinată
A. Substanțe cu moleculă mare (GM > 1000)	
a. Coloizi lineari	
— Hidrați de carbon	— Îmbunătățirea însușirilor fizice ale solului îndeosebi a structurii
— Uronide	— Rol de rezervă nutritivă pentru plante
— Acizi nucleici	— Contribuie la realizarea capacității de schimb a solurilor
b. Coloizi sferici	
— Proteine	
— Lignine	Idem
— Chitină	
c. Acizi humici și humină	Idem
B. Substanțe cu moleculă mică (GM < 1000)	
Produși de hidroliză sau descompunerea oxidativă	— Solubilizarea rocii-mamă — Rol în nutriția cu azot a plantelor (după mineralizarea lor)
Diverși metaboliți microbieni Acizi fulvici Acizi himatomelanici	— Rol în nutriția cu alte elemente plastice (după mineralizare) — Ușurarea absorbției unor substanțe prin chelatarea lor

Din tabel se poate remarca faptul că substanța organică a solului cuprinde atît unele resturi organice de proveniență mai ales vegetală, cît și substanțe proprii solului (acizii humici, fulvici, himatomelanici). De asemenea rezultă că substanța organică a solului poate participa direct în metabolismul plantelor superioare. Acest fenomen a fost descoperit pentru prima oară de W i n t e r (1952), care a găsit în apa de gutație a unor plante antibiotice încorporate în sol. B u v a t și L a n c e (1957) observă că substanțele organice cu molecule relativ mari pot pătrunde în rădăcinile plantelor printr-un mecanism special, denumit pinocitoză. Sînt pinocitați cu precădere acizii fulvici.

Substanțele humice pătrunse în plante se comportă în mod similar factorilor de creștere (F e r n a n d e z , 1968). F l a i g (1973) observă că unii componenți ai humusului au acțiune similară acidului β-indolilacetic, adică în funcție de concentrația în care se găsesc în plante au acțiune stimulatoare sau inhibitoare. Efectul acidului β-indolilacetic se realizează însă la concentrații mai mari și acțiunea stimulatoare se menține la o variație mai mare a conținutului de substanță. M a t o și colab. (1971,

Scanned with OKEN Scanner

1972) sugerează că efectul auxinic din plantă s-ar putea datora inhibării enzimei ce descompune acidul β-indolilacetic (peroxidaza specifică), inhibare caracteristică fenolilor humici sau vegetali.

Chaminade (1965) demonstrează că efectul stimulator al substanţelor humice are drept urmare o creştere a recoltei plantelor, în cazul în care acestea au la dispoziţie suficient azot mineral.

În absenţa humusului, recolta se plafonează la un nivel inferior şi la doze crescînde de azot mineral recolta începe să scadă repede. Flaig (1973) observă că orice deplasare de la nivelul optim al unor factori naturali (climatici), sau manevrabili de către om (nivelul de îngrăşare) are drept urmare o scădere substanţială de recoltă, în absenţa humusului şi o reducere mult mai mică în prezenţa acestuia.

b. **Componentele substanţei organice a solului.** Jansson (1967) consideră că în studiul materiei organice a solului trebuie avut în vedere trei factori: factorul care se descompune, factorul care descompune şi factorul descompus. Acest punct de vedere are marele merit de a scoate în evidenţă caracterul dinamic al transformărilor suferite în sol de substanţa organică.

— *Materialul care se descompune*: celuloze, hemiceluloze, lignine, substanţe solubile în apă (glucide, aminoacizi, acizi alifatici, eteri şi alcooli solubili), fracţia de grăsimi, uleiuri, răşini, ceruri, pigmenţi şi proteine (care conţin cea mai mare parte a azotului şi sulfului vegetal), constituenţi minerali. Caracteristica acestui material o constituie raportul C : N foarte ridicat.

Ca urmare a aportului extern şi transformărilor suferite, în sol, fracţia glucidică cuprinde în permanenţă: hexoze (glucoză, galactoză, manoză, fructoză), pentoze (arabinoză, xiloză, riboză, ficoză, ramnoză), dizaharide şi alte oligozide (zaharoză, celobioză şi genţiobioză), precum şi polizaharide. Oades şi Wagner (1971) au demonstrat că atît polizaharidele, cît şi unele monozaharide, mai puţin pentozele, provin din metabolizarea glucozei de către microorganismele din sol. Aceeaşi origine au probabil derivaţii zaharurilor găsiţi şi ei în sol: derivaţi azotaţi (glucozamină, galactozamină, N-acetilglucozamină), metilaţi, acizi (glucuronic, galactozuronic), precum şi polialcoolii cu proprietăţi similare glucidelor (în primul rînd inozitolul). Jaquin (1963) a arătat că polizaharidele provin din cuplarea unei molecule de monozaharid cu alta de aminozaharid prin intermediul grupării NH_2.

În sol există, firește, azot amoniacal şi nitric, precum şi un procent infim de aminoacizi liberi în soluţia solului. Cea mai mare parte a azotului însă este sub formă de compuşi mai complecşi. Aceştia, prin descompunere parţială, eliberează amoniac (10—25%), aminoacizi (20—40%), aminoglucide (1—5%), baze purinice şi pirimidinice (circa 1%). Alte substanţe azotate (colina, etanolamina, creatinina şi alantoina) apar în sol în cantităţi neînsemnate. Aproape jumătate din azotul organic al solului este conţinut în forme neidentificate, probabil substanţe heterociclice cu azot (derivaţi ai piridinei, diazine şi triazine, dintre care amintim acidul cianuric identificat încă din 1913 de Shorey în fracţia fulvică). Bremner (1950) care a studiat cel mai amănunţit biochimia azotului a identificat în sol aminoacizi proteici (care se presupune că ar exista

în sol sub formă de proteine și peptide, deși acest fapt n-a fost probat cu certitudine) și neproteici (care există în sol sub formă de mucopeptide și acizi pimelici, constituenți caracteristici ai bacteriilor sau intră în compoziția antibioticelor).

Proporția azotului aminoacidic scade pe profilul solului și este influențată de climă și factorii agrotehnici (Stevenson, 1954; Wang și colab., 1964). În solurile luate de mult timp în cultură, conținutul de aminoacizi bazici crește (Yamashita și Akiya, 1963).

Dintre derivații aminici ai zaharurilor se găsesc în sol, în mod constant, glucozamina și galactozamina (Bremner, 1949 și 1950), într-un raport ce variază de la 1,6 la 4,8 în funcție de tipul de sol. Cantitatea acestor substanțe crește pe profilul solului și crește de asemenea pe măsura scăderii pH-ului.

În sol s-au identificat trei clase de esteri fosforici: acizi nucleici, inozitolfosfați și fosfolipide.

Acizii nucleici din sol reprezintă maxim 2,4% din fosforul organic al solului și ei sînt de origine bacteriană, așa cum s-a stabilit după conținutul lor în baze azotate.

Peste 50% din fosforul organic se găsește în sol sub formă de inozitolfosfați și este în general de origine microbiană.

În sol au mai fost găsite glicerofosfatide (îndeosebi lecitină) și cel puțin două fracții neidentificate care conțin fosfor organic.

Cauza pentru care unii dintre acești compuși rezistă la descompunerea microbiană este destul de imprecis lămurită, mai ales în ceea ce privește zaharurile, în primul rînd glucoza. Se știe însă că prezența argilelor, ligninelor, substanțelor humice întîrzie descompunerea zaharurilor. Glucoza se poate complexa cu alte substanțe intrînd în compoziția humusului, la descompunerea căruia este eliberată (Macura și colab., 1963).

În timpul descompunerii materialului vegetal, în sol se eliberează uneori reductone, derivați furonici, aldehidă piruvică, care condensînd între ele sau cu aminoacizi, produc substanțe brune, cu proprietăți similare humusului (Scheffer și Ulrich, 1960). Aceștia sînt așa-numiții „compuși Maillard" (melanoidine), cu structură necunoscută și considerați după teorii mai vechi precursori ai humusului.

— *Materialul care descompune* este reprezentat de microorganismele solului. Descompunerea materialului vegetal folosește microorganismelor pentru două funcțiuni: producerea energiei pentru creștere și procurarea carbonului necesar formării materialului celular nou.

— *Materialul descompus* este reprezentat de substanțele humice. Humusul este un produs de descompunere și sinteză al microflorei. Materialul vegetal și animal inițial, ca și produsele lui de scindare, suferă o continuă descompunere și sînt convertite apoi în complexe organice brune sau albe. În acest stadiu nu mai rămîne nici o urmă din materialul inițial.

Humusul există într-un stadiu dinamic. El este supus unui atac continuu, dar este refăcut din resturile vegetale de către populația solului. Descompunerea duce la pierderea unor materiale carbonatate, dar concomitent sînt generate noi colonii microbiene. Cantitatea de carbon pierdut poate fi corelată cu structura și fertilitatea solului. Ea reflectă de aseme-

Scanned with OKEN Scanner

nea nivelul activităţii biologice. În solurile nelucrate, conţinutul în materie organică rămîne relativ constant.

c. **Humusul.** Există puţine domenii care au atras atenţia cercetătorilor, au suscitat atîtea experimentări şi au provocat atîtea discuţii, ca acela al humusului. Cu toate acestea, humusul prezintă încă numeroase necunoscute, în special în ceea ce priveşte natura şi formarea sa.

Humificarea biologică. În majoritatea cazurilor, raportul dintre carbon şi azot din humus variază în limitele 9 : 1 şi 11 : 1. Conţinutul procentual ridicat de azot din humus serveşte ca bază pentru ipoteza că acizii humici se formează prin sinteză. Cercetătorii care consideră humusul ca un produs intermediar al descompunerii substanţei organice greşesc, deoarece produşii de descompunere trebuie să fie mai simpli decît corpul ce se descompune şi nu pot conţine elemente care nu există în corpul supus descompunerii. Toate substanţele humice se caracterizează printr-un conţinut ridicat de azot şi se obţin în cursul descompunerii substanţei organice sărace în acest element.

Teoriile asupra formării humusului s-au dezvoltat paralel cu cunoştinţele asupra naturii sale chimice.

Astfel au fost enunţate iniţial numeroase ipoteze „pur chimice" a căror insuficienţă este astăzi recunoscută. Se pot menţiona : teoria polimerizării furfurolului (B e c k l e y , 1921), teoria condensării glucidelor cu acizi aminaţi sau cu polipeptide (M a i l l a r d , 1912—1913) sau teoria oxidării compuşilor benzenici (E l l e r , 1923 — 1925), teorii care nu prezintă astăzi decît un interes istoric.

Începînd din deceniul al patrulea al secolului nostru se constată un progres cert în studiile privind natura humusului. Un succes de asemenea îl reprezintă formularea teoriei naturii ligninoproteice a humusului de către W a k s m a n în 1936, care are la bază aprecierea originii humusului în raport cu constituenţii resturilor vegetale ajunse în sol. W a k s m a n porneşte de la constatarea rezistenţei deosebite a ligninei la atacul microbian, precum şi de la observaţia că în cazul introducerii în sol a diferitelor proteine, acestea se transformă în complexe noi, rezistente la atacul microbian. Cercetările au arătat că în aceste complexe, aşezarea grupărilor aminice este de acelaşi tip ca şi în acizii humici naturali.

S-a constatat apoi că proteina supusă descompunerii în prezenţa ligninei degajează numai o cantitate mică de amoniac, pe cîtă vreme în absenţa ligninei se eliberează ca amoniac 80% din azotul proteic. Pe această bază a apărut ipoteza complexului ligninoproteic.

Apariţia ipotezei lui W a k s m a n are caracterul unui salt calitativ în studiul naturii şi formării humusului. Principalele caracteristici ale acestei ipoteze sînt :

— importanţa ligninei ca precursor al humusului şi

— natura variabilă a substanţelor humice, datorită variabilităţii proteinei ce intră în proces (proteină care poate fi vegetală, animală sau microbiană).

Aceste două caracteristici stau la baza celor mai moderne teorii privind natura humusului. Pornind tocmai de la natura variabilă a substanţelor humice, astăzi nu se mai vorbeşte ca în trecut de o substanţă

Scanned with OKEN Scanner

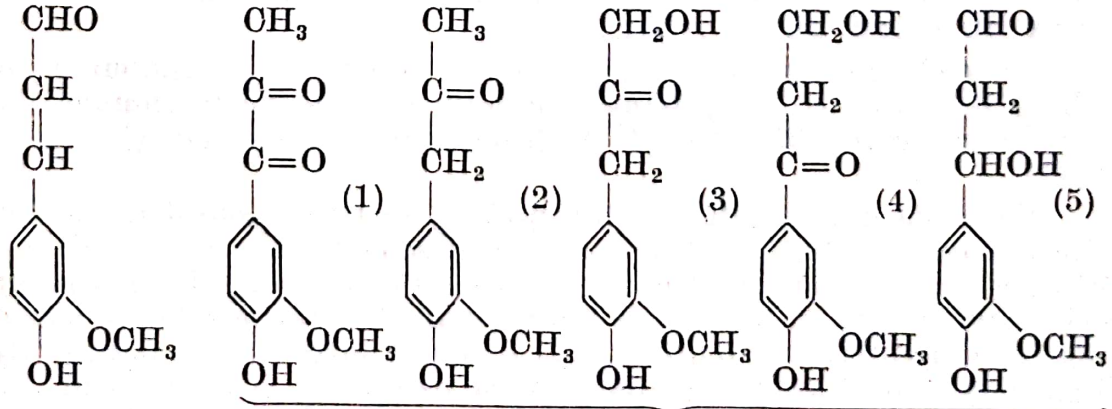
humică, ci de un sistem al substanțelor humice. Lucrările lui Mattson și Anderson (1943) expun ipoteza după care azotul organic stabil al humusului rezultă din interacțiunea dintre lignină (respectiv grupările OH oxidate) și azotul amoniacal. Deci, conform teoriei lignino-amoniacale, humusul conține azot sub formă de complecși azotați formați prin interacțiunea dintre ligninele oxidate și amoniac. Forsyth (1947) consideră de asemenea îndoielnică natura proteică a azotului humic. El apreciază că acizii humici, așa cum se găsesc în mod normal, nu conțin azot sub formă proteică, deoarece nu răspund reacțiilor specifice substanțelor proteice. Natura proteică a azotului humic a fost însă reactualizată de către Bremner (1955). Aceasta a arătat că hidroliza acidă a complexelor humice eliberează 27—45% din azotul lor sub formă de azot α-aminat. Natura acestor acizi α-aminați s-a dovedit la analiza cromatografică analogă cu aceea a fracției proteice din sol. Prezența aminoacizilor în humus sub formă de peptide a fost demonstrată prin spectrometrie în infraroșu (Goulden și Jenkinson, 1959; Buttler și Ladd, 1969), hidroliză chimică și enzimatică (Scharpensel și Krause, 1962; Biederbeck, 1973).

Considerînd humusul nu ca un corp unitar, ci ca un sistem de substanțe cu proprietăți similare, ambele teorii devin reconciliabile. Meritul ipotezei Mattson-Anderson îl constituie aprecierea faptului că ligninele pentru a putea fi supuse humificării trebuie parțial oxidate. Această idee a fost de asemenea preluată de știința modernă.

Progresul în studierea humusului a fost multă vreme frînat de lipsa de cunoștințe privind natura chimică a ligninelor. În plantă, lignina este intim legată cu diferite polizaharide și se poate extrage numai prin procedee energice care o denaturează. Extracția cu solvenți organici neutri produce o lignină mai puțin alterată, dar nu extrage din plantă decît cel mult 50% din acest compus.

Faptul că hidroliza alcalină dă naștere la derivați fenilpropanici, iar hidrogenarea catalitică, la derivați ciclohexilpropanici, justifică opinia că ea este un polimer de fenilpropan.

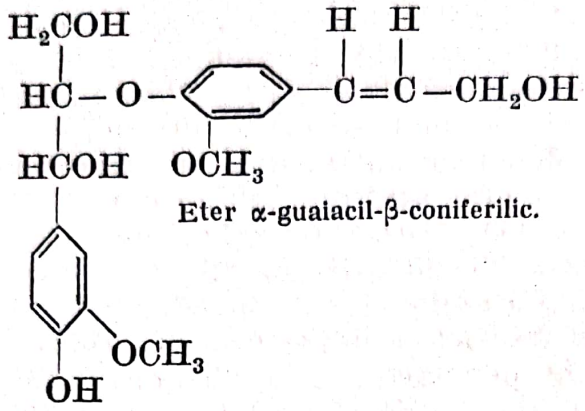
Ligninele nu conțin grupări acide, atît de importante în acizii humici. Ele conțin grupări carbonilice, una la cinci unități monomere. Monomerii ce conțin grupări carbonilice sînt coniferaldehidele și cetonele Hibbert.



Coniferaldehida

Cetone Hibbert

Aceste cetone sînt foarte importante, deoarece formele lor reduse apar în acizii humici. În lignine, aceste cetone sînt prinse între ele prin legături acileterice :



Eter α-guaiacil-β-coniferilic.

Legătura acileterică este susceptibilă la atacul microbian.

F r e u d e n b e r g (1955) a arătat că acest compus (eter α-guaiacil β-coniferilic) poate fi produs prin acţiunea unei enzime extrasă din ciuperci (laccaza), asupra alcoolului coniferilic.

Studiul degradării lignînelor a fost realizat cu ajutorul ciupercilor de putregai alb al lemnului (*Basidiomycetes*). Acest mod de a rezolva problema a fost multă vreme criticat, considerîndu-se că bazidiomicetele se găsesc foarte rar în sol.

Pe de altă parte s-a obiectat şi faptul că putregaiul alb nu duce la formare de compuşi coloraţi, atît de legaţi de sinteza humusului. Multă vreme s-a considerat că numai microorganismele capabile de a realiza aşa-numita „reacţie Bavendam" (capacitatea de a produce un halou închis pe medii ce conţin substanţe ciclizate, datorită prezenţei laccazei în echipamentul enzimatic), participă în mod nemijlocit la sinteza humusului.

D a v i d s o n şi colab. (1938) au arătat însă că peste 96% din putregaiurile albe produc reacţia B a v e n d a m şi deci apariţia sau neapariţia compuşilor coloraţi depinde exclusiv de condiţiile de mediu. Pe de altă parte, H e n d e r s o n (1960) a demonstrat că între reacţia B a v e n d a m şi capacitatea de a metaboliza lignînele sau de a produce humificarea nu există nici o relaţie.

În acelaşi timp, H e n d e r s o n a arătat că în timpul putrezirii albe a lemnului se pot produce compuşi coloraţi, de tip humic. Aceasta se petrece de regulă în corpii de fructificare (M a r t i n şi H a i d e r, 1971).

Ca urmare a cercetărilor întreprinse, se poate considera că lignînoliza are loc în felul următor : agenţii descompunerii eliberează în sol enzime, care scindează legăturile acileterice prin care lignina insolubilă este fragmentată în unităţi de fenilpropan. Ulterior are loc o demetilare masivă a acestora, evidenţiată prin scăderea progresivă a reacţiei cu floroglucină-acid clorhidric (caracteristică lignînelor) şi apariţia în spectru de infraroşu al compuşilor de scindare cu grupări acide libere (fig. 1).

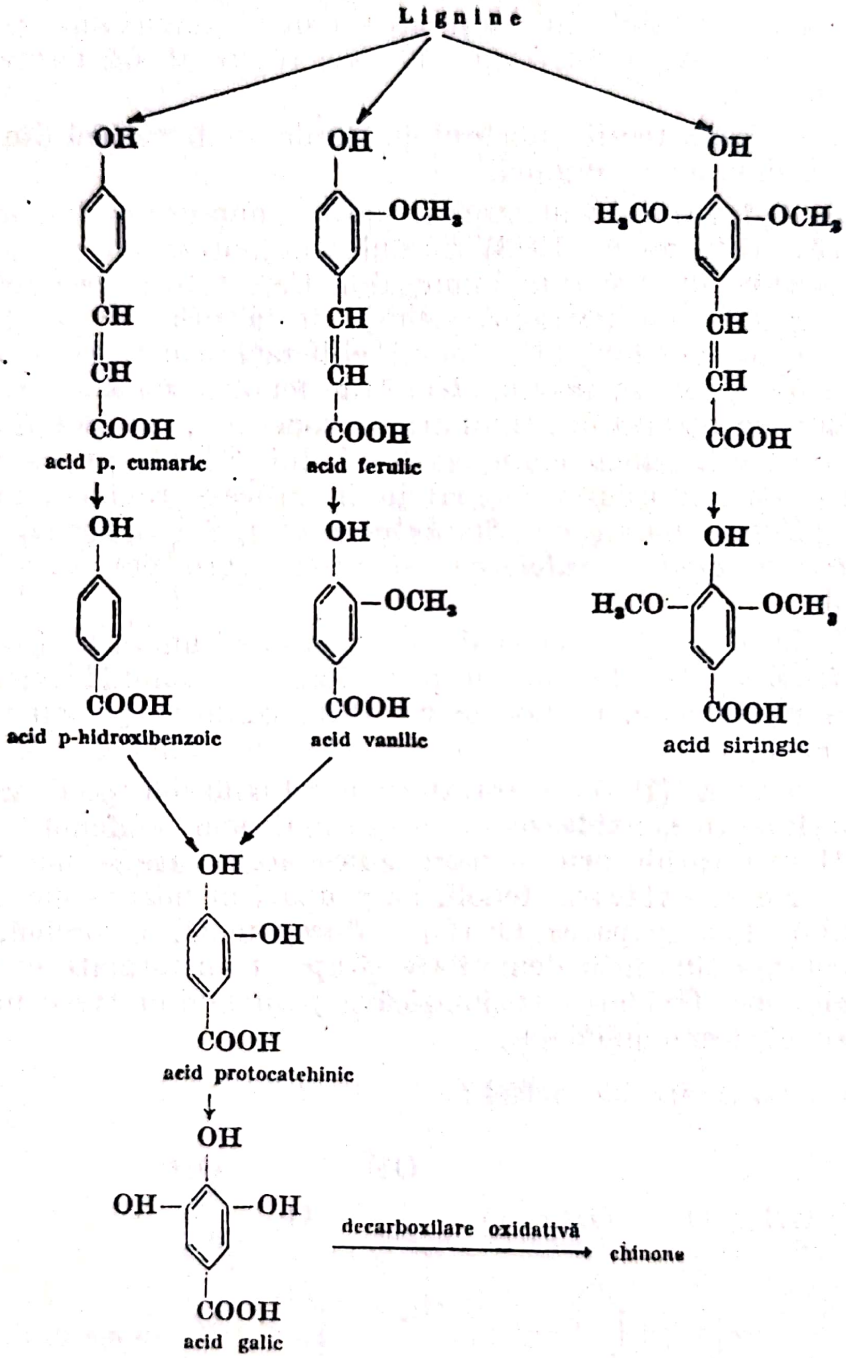


Fig. 1. Schema degradării lignînelor (după **F l a i g**, 1968)

După eliberarea din lignine a monomerilor, nu mai există motive să se presupună că restul metabolismului are loc în afara citoplasmei. Compușii aromatici formați sînt folosiți de către ciupercile putregaiului alb, ca sursă de energie. Acidul vanilic demetilat, spre exemplu, este inclus în ciclul lui Krebs.

Merite incontestabile în elaborarea teoriei humusului revin cercetătoarei sovietice K o n o n o v a , a cărei teorie atestă natura proteică a azotului humic.

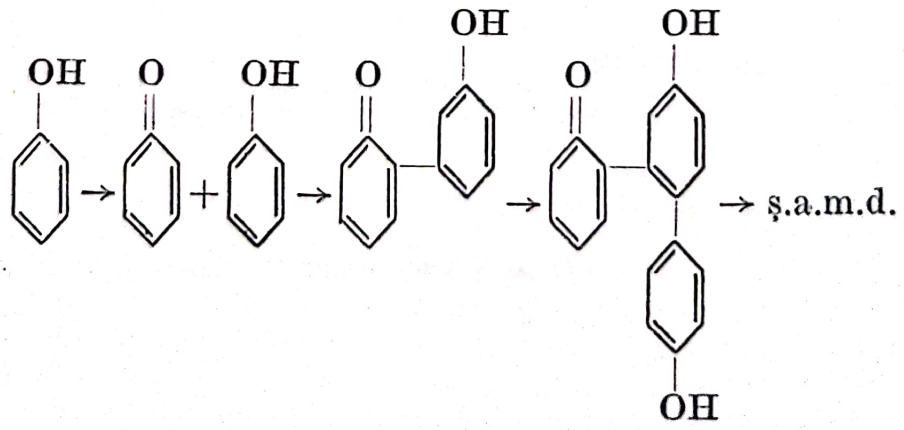
Conform acestei teorii, substanțele humice se formează din substanțe acvasolubile, lignine și taninuri.

Un aport determinat în studiul naturii humusului l-a adus școala vestgermană. K ü s t e r (1953) formulează ipoteza cu privire la rolul nucleului benzoic în structura humusului. Cercetătorii vest-germani consideră că ligninele nu participă nemijlocit la procesul de humificare, dar după descompunerea lor, fenolii eliberați constituie componentul de bază, în formarea humusului. Unitățile fenolice folosite în humificare pot de asemenea rezulta din taninuri, flavone etc., sau pot fi sintetizate direct în sol de către unele ciuperci. Școala lui F l a i g a arătat, în legătură cu aceasta, că rolul principal în humificare revine unor ciuperci imperfecte *(Epicoccum nigrum, Stachybotrys atra, S. chartarum, Aspergillus sydowii, Hendersonula toruloidea)* singurele care pot sintetiza fenoli humificabili.

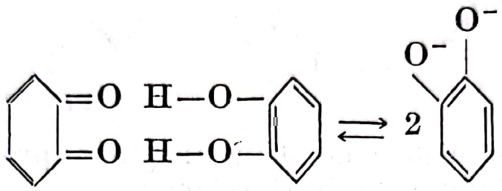
O idee de bază în teoria modernă a formării humusului o constituie oxidarea fenolilor la chinone cu participarea fenoloxidazelor vegetale și mai ales microbiene. Chinonele rezultate condensează cu substanțele ce conțin azot.

K o n o n o v a (1957) a arătat că fenoloxidazele produse de mixobacteriile celulolitice, oxidează intens tocmai acei polifenoli care conțin grupări OH în pozițiile orto și para, adică aceia care se pot transforma în chinone. Nu se oxidează fenolii cu grupări în poziția meta, afară de cei metoxilați (cu gruparea OCH_3) — floroglucină, rezorcină, guaiacol. Aceste substanțe sînt întîi demetilate și apoi transformate în fenoli oxidabili la chinone. Oxidarea enzimatică a polifenolilor trece prin stadiul intermediar al semichinonelor.

Polimerizarea are loc astfel :



Mecanismele condensării oxidative a fenolilor sînt complexe și în cursul lor se produc radicali liberi. Formarea radicalilor liberi a fost explicată de Steelink și Tollin (1962) pornind de la schemele lui Kononova și Flaig care presupun că humusul este un polimer ce conține orto și parachinone:

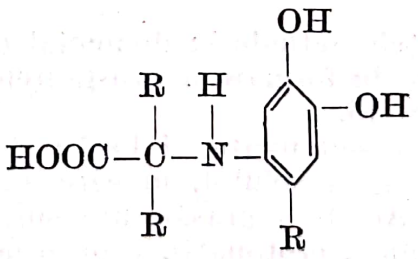


Chinonele pot produce radicali liberi stabili dacă sînt reduse (de glucoză, acid ascorbic sau glutation) în mediu bazic.

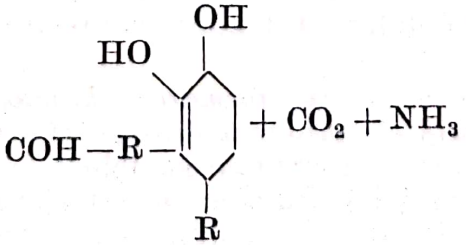
Steelink și Tollin (1962) au găsit cel puțin doi radicali liberi în acizii humici. Ulterior, Steelink (1964) i-a găsit și în humină și în acizii fulvici, dar ei apar în primul rînd în acizii humici. Concentrația cea mai mare de radicali liberi stabili se întîlnește deci în acizii humici, (Fiffaldi și Schnitzer, 1972) cu deosebire în cei extrași din solurile de sub pădure (Aliev și Kasimov, 1970).

În constituenții vegetali, radicalii liberi apar în lignine, taninuri, melanine, chinone, rășini (în cantități mici însă, ceea ce face îndoielnică participarea lor la acumularea de radicali liberi în humus).

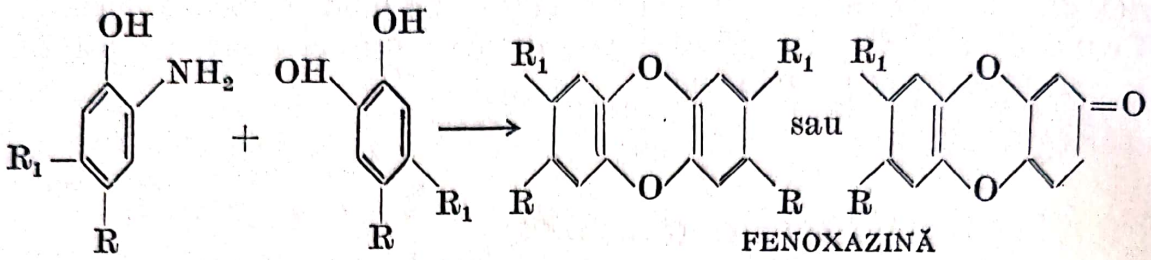
Prezența azotului în proporție de 3—4% în substanțele humice demonstrează participarea unor compuși cu azot în humificare. Flaig (1966) a arătat cum se petrece aceasta, prin formarea unui compus rezultat dintr-un aminoacid și un fenol:



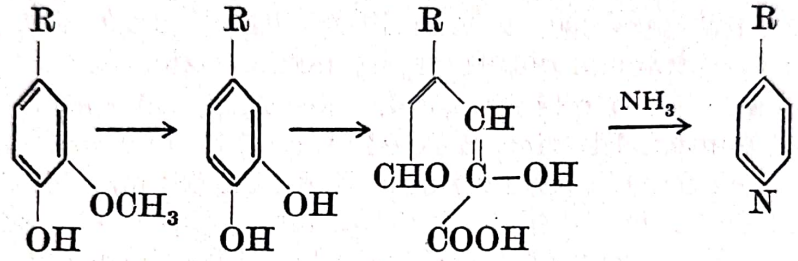
urmată uneori de dezaminare:



Se pot forma de asemenea şi compuşi heterociclici de tipul fenoxazinei :



Substanţele heterociclice cu azot ar putea proveni de la produşii de descompunere ai lignineloor după schema :



Pe această cale se presupune că ar putea apare şi compuşi de tipul diazinelor şi triazinelor. În legătură cu aceasta amintim afirmaţia lui G h i n e a (1966) conform căreia în prezenţa triazinelor erbicide, *Azotobacter chroococcum* produce mari cantităţi de pigment brun, similar cu cel produs în prezenţa benzoatului. Un argument în plus îl constituie prezenţa unui derivat triazinic (acidul cianuric) în fracţia fulvică a humusului.

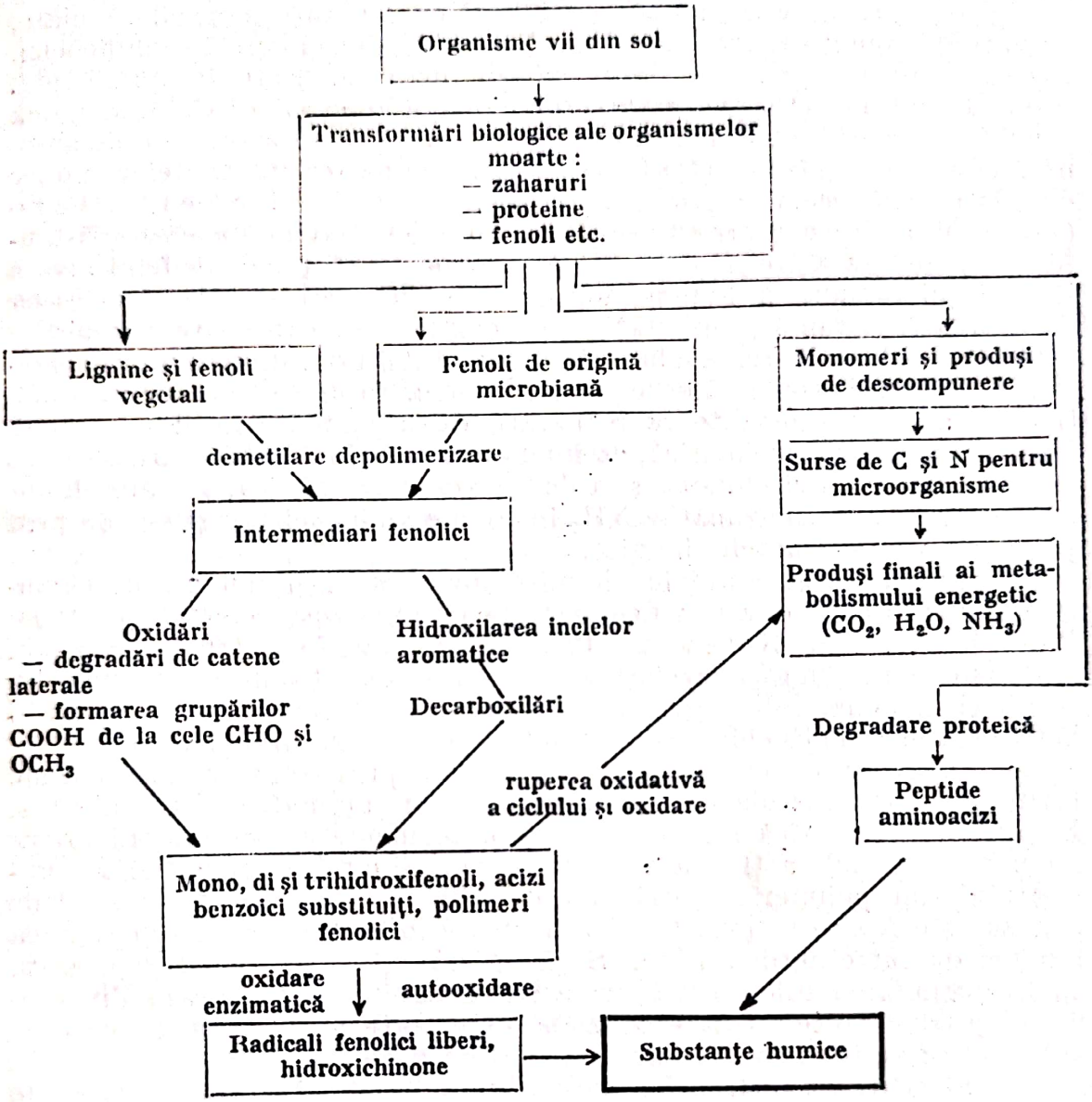
Prin condensarea cu fenoli, substanţele azotate devin mai stabile la hidroliza acidă. Cei mai stabili sînt fenolii condensaţi cu α-aminoacizi, mai puţini cei cu diaminoacizi, iar cel mai uşor se hidrolizează polifenolii condensaţi cu proteine.

Sintetizînd cunoştinţele actuale în domeniul complex al humusului, F l a i g propune schema de formare a substanţelor humice în sol pe care o prezentăm la pag. 45.

Pe baza cunoştinţelor acumulate, F l a i g elaborează o clasă nouă de îngrăşăminte cu azot greu solubil, în care amoniacul este fixat pe lignina oxidată parţial. Aceste îngrăşăminte sînt superioare altora de acelaşi fel (ureoformaldehide, crotonaţi), prin aceea că ele asigură ca şi humusul, aprovizionarea plantei şi cu unele substanţe ce joacă rol de fitohormoni. Ele sînt cu atît mai mult superioare îngrăşămintelor cu azot uşor solubil (nitraţi, săruri de amoniu şi uree). Problema îngrăşămintelor, cu azot greu solubil, va fi tratată mai pe larg la capitolul de îngrăşăminte.

Rolul microorganismelor în formarea humusului. S c h a e f f e r şi U l r i c h (1960) arată că formarea substanţelor humice pe cale microbiologică poate avea loc în următoarele feluri :

— Formarea substanţelor humice în interiorul celulelor anumitor organisme.



— Transformarea de către microorganisme a compușilor chinoizi în cadrul autolizei.

— Oxidarea ectoenzimatică de către microorganisme vii a compușilor aromatici din substrat.

— Formarea de substanțe humice din produsele nearomatice de autoliză prin intermediul microorganismelor.

— Formarea substanțelor humice în interiorul celulei este caracteristică de regulă microorganismelor cu pigment închis. La *Azotobacter chroococcum* și la *Aspergillus niger*, acești coloranți sînt de regulă melanina și humina. În unele cazuri, cum este de exemplu la *Stachybotrys lobulata*, cantitatea acestor substanțe poate reprezenta pînă la 54% din greutatea miceliului (Springer și Wagner, 1952). Kononova și Aleksandrova (1956) au arătat că *Aspergillus niger* și unele specii

de *Penicillium* sintetizează compuși acizi cu greutate moleculară mare, de natură aromatică, care prin hidroliză acidă pot elibera 16 aminoacizi. Aceşti produşi reprezintă stadii iniţiale de condensare în humificare. Von Plotho (1951) a extras din *Aspergillus niger* o oxinaftochinonă capabilă de a se transforma în acid humic în prezenţa azotatului de amoniu. Martin şi colab. (1967) au studiat producerea substanţelor humice de către *Epicoccum nigrum*. Hardinsson şi Robert Gero (1966), Walker şi Haris (1970) au evidenţiat producerea substanţelor humice de către *Azotobacter chroococum* confirmînd în felul acesta sinteza microbiană a humusului. Substanţele secretate de *Azotobacter chroococcum*, prezintă proprietăţi fizico-chimice asemănătoare humusului extras din sol : culoare, solubilitate, precipitabilitate, dimensiuni moleculare şi conţinut asemănător de acizi humici, fulvici şi himatomelanici. Sinteza acestor substanţe se realizează după opinia autorilor în două faze : o primă fază enzimatică, cu intervenţia fenoloxidazei în urma căreia rezultă catecholul şi chinona şi a doua fază, pur chimică, în care chinonele reacţionează cu grupările NH_2 libere ale aminoacizilor şi vor da prin polimerizare substanţele humice.

— Formarea substanţelor humice din pigmenţii microbieni chinoizi în cursul autolizei a fost demonstrată de numeroşi cercetători : von Plotho (1951), Küster (1952) şi Scheffer (1953). S-a mai arătat de asemenea că în acelaşi mod cu formarea substanţelor humice din fenoli şi chinone, substanţele humice se mai pot forma şi din derivaţii benzochinonei, naftochinonei, antrachinonei şi fenantrenchinonei.

— Oxidarea exoenzimatică se realizează prin acţiunea unor enzime microbiene extracelulare asupra compuşilor arcmatici din substrat. Ea este caracteristică microorganismelor pigmentate care secretă intens fenoloxidaze. Sub acţiunea fenoloxidazelor, compuşii aromatici ai substratului sînt polimerizaţi oxidativ în substanţe humice. Acest mod de sinteză este foarte răspîndit şi joacă un rol important la descompunerea ligninei de către actinomicete. Scheffer şi Ulrich (1960) arată că la degradarea microbiană oxidativă a ligninei se formează din oxifenoli produse intermediare asemănătoare, care pot fi transformate în substanţe humice prin oxidare sau autooxidare.

— Formarea substanţelor humice din produsele nearomatice de autoliză are loc ulterior prin intermediul altor microorganisme. Kononova (1958) arată că formarea substanţelor humice are loc cu intensitate mare abia după ce microflora celulolitică este în masă supusă autolizei.

Rolul animalelor din sol în producerea substanţelor humice. Chiar dacă importanţa mai mare a animalelor din sol se referă la fragmentarea resturilor vegetale, totuşi ele contribuie şi la formarea substanţelor humice prin fermenţii digestivi şi activitatea bacteriilor intestinale. Animalele din sol nu descompun numai o parte a hidraţilor de carbon şi a altor componente ale celulei vegetale (prin fermenţii digestivi proprii şi prin bacteriile intestinale), ci ele activează şi ligninele puse în libertate cu această ocazie. Lignina activă se găseşte în excrementele animalelor din sol, asociată cu celulele epiteliale bogate în proteine. În excrementele animalelor sînt deci create premizele optime pentru formarea substanţelor

humice din lignină. Formarea amoniacului determină o reacție alcalină și aceasta grăbește amonificarea autooxidativă a ligninei. Cantitatea prea mare de amoniac formată și condițiile facultativ anaerobe din interiorul excrementelor nu permit nitrificarea accelerată, iar amoniacul stă relativ mult timp la dispoziția proceselor de humificare.

Prima confirmare experimentală a formării acidului humic în intestinul animal au adus-o Franz și Leitenberger (1948).

Humificarea abiologică. Jacquin și Mangenot (1959) au scos în evidență faptul că în afara unei humificări datorată microorganismelor, există și o humificare abiologică. Fenomenul a fost pus în evidență de autori la diferite specii vegetale, care prin simpla macerație în apă saturată cu cloroform și prin expunere la aer, formează precipitate mai mult sau mai puțin colorate. Aceste precipitate pot fi negre la *Melandryum silvestre*, *Sarothamnus scoparius*, *Ranunculus repens*, sau brune la *Digitalis purpurea* și *Fraxinus excelsior* și sînt asemănătoare substanțelor humice.

Factorii care condiționează humificarea. Humusul se formează în sol datorită descompunerii substanței organice vegetale sau animale de către microorganisme. Transformările organice care duc în ultimă instanță la formarea humusului variază atît cantitativ, cît și calitativ în funcție de numeroși factori, fie interni sau externi.

— *Factorii interni.* Dintre factorii interni care condiționează formarea humusului, interes deosebit prezintă : compoziția materialului de origine și gradul de activitate a micropopulației.

— Compoziția materialului de origine. Natura resturilor vegetale condiționează în mare măsură natura humusului care se formează. De exemplu, anumite resturi vegetale care aduc cantități mici de lignină, dar sînt bogate în calciu și azot, cu un raport C : N scăzut, duc în general la formarea humusului de calitate slabă, cunoscut sub numele de mull. Din contră, humusul calitativ superior de tip mor provine din resturi vegetale bogate în lignină, sărace în baze și cu raport C : N ridicat.

— Gradul de activitate al microorganismelor. Descompunerea constituenților vegetali nu este uniformă în toate solurile. Ea depinde într-o măsură foarte mare de activitatea microorganismelor. De exemplu, în cazul unei activități microbiene intense, celuloza, hemiceluloza și lignina participă intens la formarea compușilor chinonici, a căror legare cu diferiți alți compuși — de regulă acizi aminați proveniți din sinteze, fixarea și proteoliza bacteriană — duc la nașterea acizilor humici. Din contră, într-un mediu a cărui activitate microbiană este slabă, glucidele sînt aproape singurii produși utilizați, ligninele se acumulează sub formă puțin modificată și are ca rezultat dominarea substanțelor prehumice (Duchaufour, 1956).

Köhnleni (1964) stabilește trei situații condiționate de activitatea microorganismelor :

— Regularitatea îmbogățirii humusului raportată la substanța adăugată. Conținutul în humus crește cu atît mai mult cu cît condițiile pentru descompunerea biologică sînt mai nefavorabile.

— Calitatea humusului în solurile cu folosinţă agricolă (apreciată prin raportul C : N) este cu atît mai bună cu cît condiţiile de transformare biologică sînt mai favorabile în procesul de pedogeneză.

— Regularitatea constanţei calităţii humusului. Prin măsurile agrotehnice, raportul C : N nu este practic influenţat.

— *Factorii externi.* Principalii factori externi care influenţează humificarea sînt următorii : climatul, aeraţia, pH-ul, tipul de sol, conţinutul în baze şi modul de cultură a solului.

— Climatul condiţionează gradul de humificare prin temperatură şi umiditate. Temperatura optimă pentru humificare se situează în jur de 30—35°C la umiditatea de 60—70 %.

— Aeraţia trebuie de asemenea să fie satisfăcătoare ; dacă nu, ea limitează activitatea microbiologică la procese anaerobe, în care caz are loc o acumulare considerabilă de lignină, pierderi de compuşi solubili şi gazoşi prin atacul celulozei şi hemicelulozei.

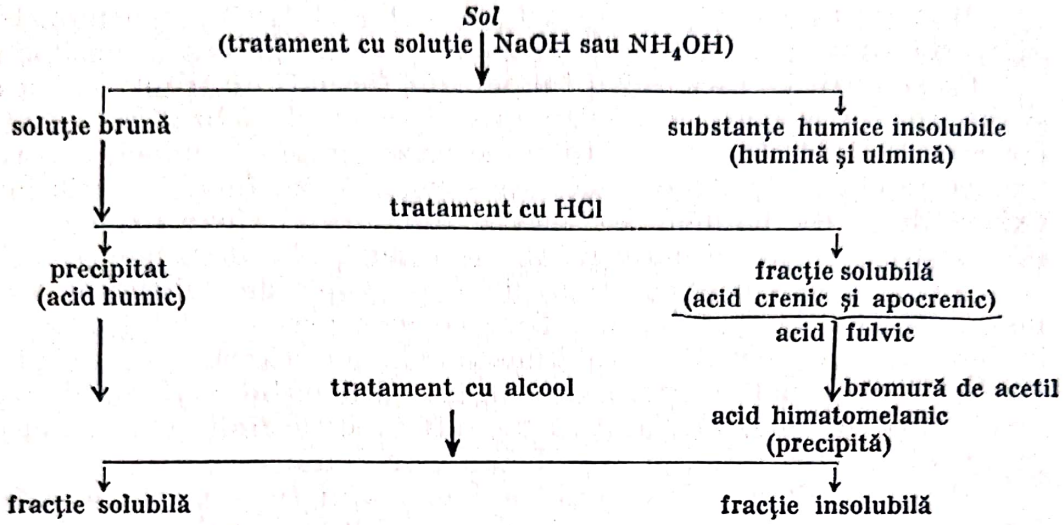
— pH-ul, conţinutul în baze schimbabile şi tipul de sol. Formarea complexelor humice diferă în funcţie de cadrul fizico-chimic în care are loc. Într-un sol bogat în cationi, în special calciu, predomină acizii humici cenuşii (bogaţi în azot aminat şi compuşi chinonici) cu raport C : N de 8—10. În solurile slab acide, predomină acizii humici bruni (relativ săraci în azot aminat şi compuşi chinonici) cu raport C : N ridicat, foarte solubil în solvenţii obişnuiţi. În solurile foarte acide şi nesaturate în baze, predomină complexele humico-ligninice (foarte sărace în azot), cu raport C : N în jur de 20, bogate în lignine puţin modificate, foarte solubile în alcalii sau bromură de acetil. Cantitatea şi calitatea argilei din sol influenţează puternic descompunerea materialului vegetal, sinteza şi polimerizarea unităţilor de structură a humusului (B o n d i e t t i şi colab., 1971).

— Modul de cultivare a solului. Exploatarea continuă, fără reîmprospătarea bazei organice prin îngrăşăminte naturale sau chimice, duce la diminuarea gradată şi constantă a substanţei humice.

Structura humusului. Primele încercări de lămurire a structurii humusului aparţin probabil lui S p r e n g e l (1826). Terminologia actuală a diferitelor componente ale humusului aparţine acestui cercetător şi altora care au lucrat activ în această direcţie ca B e r z e l i u s (1839), O d e n (1919), F o r s y t h (1947) şi K o n o n o v a (1961). Cu toate că metodele de extragere şi fracţionare a humusului au evoluat mult în ultimul timp, avînd în vedere heterogenitatea acestui produs, condiţionată de factorii pedoclimatici, nu se poate vorbi de metode general acceptate. O extragere completă a întregii substanţe organice din sol pare a fi imposibilă, dar informaţii considerabile asupra chimiei humusului pot fi obţinute pe fracţiile care sînt solubilizate succesiv cu diferiţi reactivi.

Substanţa organică obţinută prin diferite procedee de extracţie a putut fi separată prin diferite metode de fracţionare al căror număr este de asemenea foarte mare. În majoritatea cazurilor, ele duc la o schemă de fracţionare, asemănătoare celei propuse de K o n o n o v a (1961) :

Scanned with OKEN Scanner



Acizi humici bruni și cenușii sînt corpi ciclici, macromoleculari, cu un grad ridicat de polimerizare : 5—100 mii (Gordienko și colab. 1973). Polimerizarea acizilor humici crește cu vechimea cultivării solului. Ei sînt solubili în soluțiile alcaline diluate și pot fi precipitați cu acizii minerali. Nu sînt solubili în bromură de acetil și alcool. Elementele constitutive sînt unite în verigi izo- și heterociclice, hexa și penta condensate de benzol, furanol, naftalină etc. Acestea sînt unite prin punți de —O—, —NH—, =N—, $-CH_2-$ sau —S—. Thiele și Kettner 1956 consideră ca grupe capabile de reacție, în primul rînd —OH, iar apoi —COOH, — $-NH_2$, HSO_3- și OCH_3. După Flaig și Beutelspacher (1954) acizii humici bruni și cenușii sînt sferocoloizi, adică sînt formații rotunde, în comparație cu coloizii lineari ai celulozei. Structura sferoidală a acizilor humici le conferă o mai mare rezistență la atacul microbian. Existența unor catene laterale ramificate are aceeași semnificație. Rezistența mai mare la atacul microbian se leagă și de heterogenitatea lor structurală, obținută prin copolimerizarea și cocondensarea a numeroase molecule aparținînd unor substanțe diferite. Aciditatea acestor substanțe este o consecință a grupelor fenolice OH și parțial a grupelor COOH.

Acizii humici pot forma săruri. Sărurile lor alcaline sînt ușor solubile, iar humații de calciu, magneziu, fier și aluminiu, care se găsesc deseori în sol, sînt greu solubili. Structura acizilor humici diferă cu vîrsta lor; cei mai vechi și mai valoroși — cei din cernoziomuri — au un grad mai ridicat de condensare a nucleilor aromatici și sînt mai bogați în grupări CO și COOH (Kononova și Alexandrova, 1974).

Acizi fulvici sînt constituiți din produși neuniformi din punct de vedere calitativ. Pe baza capacității lor, mai mult sau mai puțin evidente de a polimeriza în acizi humici, au fost împărțiți de Berzelius în acizi crenici și acizi apocrenici. În compoziția lor chimică intră glicozizi fenolici, acizi poliuronici, precum și compuși organici ai fosforului și azotului. Laatsch și colab. (1950) au demonstrat că acizii fulvici pot fi transformați parțial în acizi humici. Ortiz de Serra și Schwitzer (1973) au arătat că acizii fulvici se deosebesc de cei humici și prin prezența unor derivați sulfurați ai benzenului.

Mişustin (1964), Freytag şi Igel (1970) au demonstrat însă că în sol sinteza acizilor humici poate precede pe cea a acizilor fulvici.

Ca şi acizii humici, acizii fulvici sînt formaţi dintr-un nucleu ciclizat şi din catene laterale. La acizii fulvici, nucleul ciclizat este mai redus, iar catenele laterale sînt foarte numeroase. În acizii humici, raportul dintre aceste elemente structurale este invers. Acizii fulvici conţin mai mult oxigen decît cei humici. La acesta din urmă, chiar oxigenul existent se găseşte, în cea mai mare parte din cazuri, blocat în nucleele ciclizate.

Acizi himatomelanici reprezintă o grupă de substanţe valoroase, însă calitativ tot neuniforme. In ceea ce priveşte solubilitatea (solubili în bromură de acetil), acizii himatomelanici seamănă cu acizii fulvici. Gradul lor de polimerizare este însă considerabil mai mare, putînd fi precipitaţi cu acizi. Probabil că nu sînt produse finite stabile, ci produse intermediare de formare a substanţelor humice.

Humina. Fracţia insolubilă a humusului se numeşte humină. Conform părerilor emise de Kononova (1961), o substanţă este cu atît mai condensată cu cît este mai veche. În acest sens, humina este termenul final al biosintezei humice. Vîrsta sa medie, (măsurată după conţinutul în ^{14}C) este de 2000—5000 de ani, faţă de 1000—2000 de ani cît au acizii humici şi 50—250 ani pentru fracţiile mai puţin condensate (Kononova şi Alexandrova, 1974).

Este totuşi evident că humina conţine şi foarte multe resturi vegetale incomplet humificate. Determinarea făcută la trifoi marcat cu ^{14}C arată că resturile vegetale ajung în scurtă vreme (10 zile) în toate fracţiile humusului (Dommergues şi Mangenot, 1970) ca şi ^{15}N din îngrăşămintele minerale (Freytag şi Igel, 1972).

Jaquin şi colab. (1974) au găsit în humină majoritatea polizaharidelor şi aminopolizaharidelor din sol. Participarea acestora la procesele de humificare îmbracă trei aspecte:

— Formarea huminei microbiene labile, în cazul în care condiţiile ecologice favorizează un circuit rapid al substanţelor.

— Încorporareà lor în catenele laterale ale substanţelor humice.

— Încorporarea în humină stabilizată în funcţie de afinitatea unor grupări funcţionale pentru coloizii argiloşi.

Tot din fracţia de acid humic, Waksman (1926) a izolat o fracţie de α şi una de β humus. Humusul se obţine prin acidifierea obişnuită a extractului (în hidroxid de sodiu) cu acid clorhidric. Soluţia este apoi neutralizată cu alcalii pînă la punctul izoelectric al fracţiei de humus, la pH 4,6—5,0. Fracţia astfel obţinută este solubilă atît în alcalii cît şi în acizi, dar este precipitată în zona punctului izoelectric. Conform schemei lui Oden, α humusul este un amestec al fracţiilor de acid humic şi acid himatomelanic, iar β humusul este o sare de potasiu, aluminiu şi fier a acizilor fulvici.

Bremner (1955) hidrolizează fracţia de acid humic cu acid clorhidric 6 N şi determină în extract mai multe subfracţii. Subfracţia predominantă constă din aminoacizi. O parte considerabilă a azotului din acidul humic nu este dizolvat prin hidroliză, deoarece el este prins în complexe ligninoamoniacale.

Scanned with OKEN Scanner

Fracția de acid fulvic a fost de asemenea supusă unor separări ulterioare. F o r s y t h (1947) a găsit că fracția de acid fulvic a substanței organice poate fi separată în următoarele subfracții (prin absorbția parțială pe cărbune activ, urmată de eluția succesivă a materialului, cu soluție de hidroxid de sodiu 0,5N):

— subfracția A conține compuși solubili în apă, cum sînt zaharurile și aminoacizii;

— subfracția B conține o substanță pigmentată care, după F o r s y t h constă în principal din glucozide fenolice și taninuri;

— subfracția C conține polizaharide colorate, obținute cu apă distilată. Această fracție include glucoza, galactoza, manoza, arabinoza, xiloza, riboza și o fracție de acid uronic. Preparatul conține de asemenea azot, din care o parte sub formă de aminozaharuri;

— subfracția D conține substanțe pigmentate obținute prin eluție cu 0,5N hidroxid de sodiu. Este bogată în compuși cu azot, pentoze și compuși organici cu fosfor.

S-a demonstrat că unul din factorii care imprimă deosebiri importante calitative și cantitative ale substanței organice, în speță humusul, este tipul de sol (T i u r i n, 1938; R î d a l e w s k a i a și T i s c e n k o, 1944).

Descompunerea humusului. Descompunerea humusului reprezintă un proces cu implicații practice deosebit de importante. Se știe că în rare cazuri acoperirea nevoilor plantelor în ceea ce privește elementele nutritive se poate realiza integral din îngrășăminte. În majoritatea cazurilor produșii rezultați din descompunerea humusului reprezintă una din surse pentru hrana plantelor. Rolul humusului ca rezervor pentru plante a fost demonstrat de numeroase lucrări. Din ele rezultă că în solurile necultivate conținutul în humus se menține la același nivel timp îndelungat, în timp ce în solurile cultivate se înregistrează scăderi accentuate. În cazul unei exploatări intense fără suplimentări de îngrășămînt organic, A l e x a n d e r (1961) consideră că peste 5% din carbonul prezent în humus este mineralizat în cursul unui an. Aprecierea intensității descompunerii humusului se poate exprima prin coeficientul de mineralizare. Acest coeficient a fost introdus de D o m m e r g u e s (1968) și este dat de următoarea formulă:

$$\text{c.m.} = \frac{\text{Carbon din substrat mineralizat } (CO_2) \text{ între } t_1 \text{ și } t_2 \cdot 100}{\text{Carbon total substrat}}$$

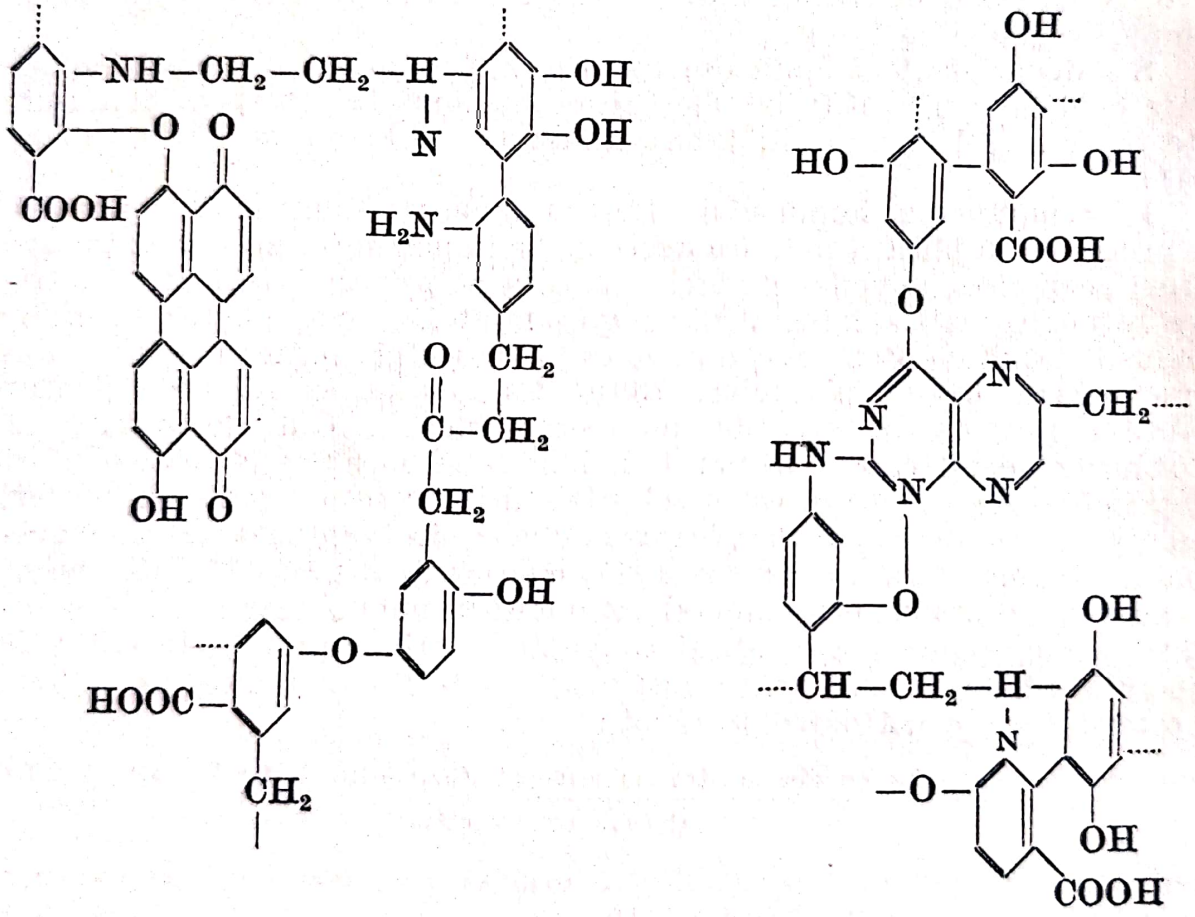
Dacă tot carbonul din substrat este mineralizat, acest coeficient va fi egal cu 100. În realitate este totdeauna mai mic, întrucît nu tot carbonul din substrat se transformă. Coeficientul de mineralizare exprimă, de regulă, valori reale atunci cînd este vorba de descompunerea resturilor vegetale. În cazul humusului, lucrurile sînt mai complicate. Aceasta se datorește faptului că o mare parte din substrat nu poate fi metabolizat. Totuși și această parte care nu dă naștere la bioxid de carbon este atacată și liberează lent produși intermediari. O parte din acești produși sînt folosiți de microorganisme în diferitele procese (asimilație oxidativă). În plus, o parte a substanței organice humice se sustrage adesea atacului microbian, fiind adsorbită de coloizii argiloși.

Scanned with OKEN Scanner

Factorii majori care condiţionează descompunerea humusului sînt reprezentaţi de natura şi cantitatea substanţei organice, gradul de exploatare a terenului, temperatura, umiditatea, pH şi de nivelul de activitate al microorganismelor. În general, factorii de mediu care afectează dezvoltarea microbiană şi metabolismul acestora sînt aceiaşi care contribuie la mineralizarea intensă a humusului.

Natura humusului. Este un factor important care condiţionează atît gradul cît şi viteza de descompunere a substanţelor humice. Diferitele fracţii ale complexelor humice, neomogene din punct de vedere chimic, sînt supuse descompunerii în mod diferenţiat.

Se ştie că substanţa humică are o stabilitate deosebită. Aceasta se datoreşte iregularităţii structurale şi nereproductibilităţii sale. În schema de mai jos se dau două tipuri de molecule humice, după K l e i n h e m p e l (1972) :



Iregularitatea structurală antrenează necesitatea unei continue readaptări enzimatice a microflorei. „Substanţele humice apar sub acest aspect ca structuri moleculare foarte stabilizate termodinamic şi puternic randomizate, a căror depolimerizare enzimatică are un grad înalt de improbabilitate" (K l e i n h e m p e l, 1972). Descompunerea macromoleculelor humice necesită (datorită iregularităţii de structură) valori ridicate ale entropiei de activare, care constituie de asemenea o barieră în mineralizarea lor. Substanţele humice cu vîrsta cea mai ridicată realizează valori maxime ale entropiei.

Acțiunea de inhibare pe care substanțele humice o exercită față de biodegradarea celulozei și proteinelor se poate explica prin adsorbția acestora pe matricea humică (care prin iregularitatea sa realizează o protecție sterică față de acțiunea enzimatică).

Dommergues (1968) studiind humusul din diferite zone climatice și tipuri de sol, pune în evidență o variabilitate accentuată a coeficientului de mineralizare. Astfel pentru solurile podzolice din regiunile temperate și cele tropicale s-au înregistrat valori foarte scăzute ale acestui coeficient, în jur de 0,2—0,3, în timp ce pentru cernoziomuri valoarea raportului s-a ridicat la 2,5.

Nivelul de activitate al microorganismelor. Agenții biologici capabili de a descompune humusul (după Winogradsky — flora autohtonă a solului) sînt diferiți de cei care degradează resturile vegetale sau animale proaspete. Participă la acest proces ciuperci, actinomicete și bacterii. În funcție de numeroși factori externi, activitatea acestor grupe de microorganisme diferă. În solurile tropicale, participarea ciupercilor și a actinomicetelor este foarte importantă și primează asupra bacteriilor. Și în celelalte tipuri de sol și în alte condiții climatice, participarea bacteriilor la procesul de descompunere a humusului este mai redusă ca a actinomicetelor și a ciupercilor. Numai rareori s-au descris bacterii dotate cu această proprietate. Printre acestea figurează *Bacillus cereus* var. *mycoides* (Kudrina, 1951) și *Azotobacter*. De asemenea Pignaud și colaboratorii (1966) atribuie genurilor *Pseudomonas* și *Aeromonas* proprietăți humusolitice. La actinomicete acest proces este foarte răspîndit și Alexandrova (1953) a demonstrat că acizii humici folosesc acestor microorganisme drept sursă de carbon. Robert Gero și colab. (1967) consideră că marea stabilitate a polimerilor humici fac puțin probabil rolul lor de rezerve nutritive pentru microorganismele solului.

Swaby și Ladd (1962) arată că numai asociațiile complexe de microorganisme pot dispune de întreg ansamblul de enzime necesar descompunerii humusului. Din complexul enzimatic al florei microbiene ce atacă humusul nu trebuie să lipsească fenoloxidazele și peroxidazele (Nikitin, 1961). La ciuperca *Penicillium frequentans*, care este capabilă să descompună și alți compuși ciclizați cum sînt triazinele (Ghinea, 1964), descompunerea humusului este asigurată de un sistem enzimatic adaptiv (Mathur și Paul, 1967). Ciuperca descompune cu precădere partea ciclizată a humusului .

Datorită caracteristicilor enzimatice ale procesului de descompunere a humusului, speciile într-adevăr active sînt tot ciupercile bazidiomicete (Hurst și Burges, 1967; Flaig și Schmidt 1957). Ciupercile din genul *Penicillium* sînt deosebit de active, îndeosebi *P. lilacinum* și *P. frequentans*.

Procesul începe prin adsorbția acizilor humici pe suprafața miceliului. Acest acid adsorbit se modifică rapid (nu mai absoarbe lumina cu lungime de undă de 5,8μ, ceea ce sugerează reducerea grupărilor carboxilice și carbonilice). S-a constatat că decolorarea humaților este corelată cu capacitatea microorganismelor de a reduce grupările carboxilice ale acizilor aromatici. Acesta este procesul cheie al mineralizării humusului,

Scanned with OKEN Scanner

deoarece în urma acestui fapt, legăturile eterice dintre monomeri devin accesibile enzimelor microbiene.

Nu se cunosc produşi intermediari în descompunerea humusului, dar se presupune că ei sînt folosiţi pe măsură ce se produc.

— *Climatul şi aeraţia.* Temperatura şi aeraţia ridicată stimulează de regulă descompunerea humusului. Alternanţa căldurii cu frigul — termoperiodismul — accelerează de asemenea foarte mult procesele de descompunere (B i r e c k i şi G a s t o l, 1964). Gerul măreşte stabilitatea humusului, ca şi uscarea solului, deoarece favorizează polimerizarea sa. De aceea în regiunile umede şi calde în permanenţă, se formează numai molecule humice slab condensate (D u c h a u f o u r şi J a q u i n, 1957). Cantitatea de humus este maximă în zona cernoziomurilor. Ea scade spre nord datorită umidităţii ridicate şi spre sud datorită intensei mineralizări.

— *Solul.* În solurile acide, adăugarea de oxid sau carbonat de calciu favorizează mineralizarea humusului, prin influenţa asupra pH-ului şi asupra echilibrului ionic, care la rîndul lor influenţează activitatea microbiană. Solul influenţează de asemenea descompunerea humusului prin conţinutul în baze schimbabile, conţinutul în argile şi textură. Substanţa organică este protejată de mineralizare în spaţiile mai mici de 1μ în care bacteriile nu pot pătrunde. Substanţa organică este protejată de asemenea şi prin adsorbţia pe argile.

— *Activitatea omului.* Prin diferite practici agricole, omul accelerează descompunerea humusului;

— prin aerare (afînarea prin lucrări, drenare);
— prin ridicarea umidităţii (în cazul irigării solurilor);
— prin îngrăşare cu material organic;
— prin îngrăşare cu azot mineral;
— prin planta de cultură;
— prin corectarea pH-ului;
— prin desorbţia enzimelor.
— *Efectul de activare* (Priming effect).

Încorporarea în sol a substanţei organice proaspete cu raport C : N scăzut favorizează activitatea microbiană, care determină la rîndul ei intensificarea descompunerii humusului. Trebuie menţionată observaţia făcută încă în 1947 de către B r o a d b e n t şi N o r m a n şi în 1953 de către H a l l a m şi B a r t h o l o m e w, după care descompunerea humusului este mult accelerată cînd în sol sînt prezente surse transformabile de carbon. Cu ajutorul resturilor vegetale marcate radioactiv, autorii au arătat că pierderea de humus intervine numai în cazul aplicării repetate de cantităţi mici de îngrăşămînt verde. Stimularea descompunerii materiei organice preexistente în sol, prin adăugarea unui substrat metabolizabil se numeşte efect de activare (priming effect). Efectul de activare a fost scos în evidenţă de L ö h n i s (1926), dar cei care l-au cercetat în amănunt au fost B r o a d b e n t şi N o r m a n în 1947. Efectul de activare poate fi schematizat ca în figura 2 (J e n k i n s o n, 1963). Considerăm un sol la care se încorporează un substrat marcat cu ^{14}C (sol îmbogăţit) şi un

același sol care nu a primit nimic. Fie x, cantitatea totală de bioxid de carbon degajat în timpul incubării de către solul îmbogățit, y, cantitatea de bioxid de carbon degajat de substratul singur și z, cantitatea de bioxid de carbon degajat de solul martor. Efectul de activare este dat de relația $x-(z+y)$.

Pentru punerea în evidență a efectului de activare se folosește întotdeauna un substrat cu carbon marcat, ceea ce permite diferențierea între cantitatea de bioxid de carbon degajat de solul neîmbogățit și bioxidul de carbon degajat care provine din substratul adăugat. Explicațiile date efectului de activare sînt numeroase, dar pot fi schematizate astfel :

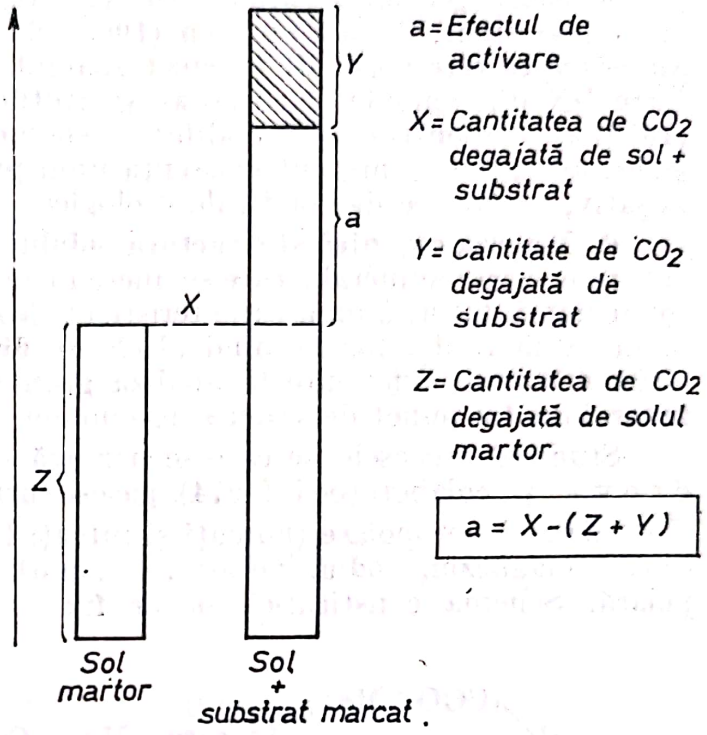


Fig. 2. Schema efectului de activare (după Jenkinson, 1963)

— O microfloră mai numeroasă se dezvoltă pe componentele de rezidii și cînd acestea sînt epuizate, microflora este forțată să folosească substanța organică a solului. Această explicație se bazează pe o condiție esențială pentru obținerea efectului de activare și anume cantitatea de rezidii adăugată să fie foarte mică, în așa fel încît să constituie numai un start al activității microorganismelor la un nivel superior. În cazul în care substanța se adaugă în cantitate mare, ea constituie o sursă de energetică preferată, iar în mediu, în loc de o descompunere a humusului se obține sinteza sa.

— Reziduurile proaspete adăugate, prin raportul C : N mai mic, fiind mai bogate în azot, determină o microfloră variată care la rîndul ei determină și o activitate enzimatică sporită. Aceasta contribuie sinergic la accelerarea descompunerii humusului. Freytag și Igel (1968) au remarcat fenomenul de activare și în cazul adăugării glucozei, dar numai cînd s-au adăugat și săruri de azot, fosfor și potasiu. În lipsa acestora, autorii au pus în evidență chiar un efect de activare negativ, respectiv acumularea humusului în sol.

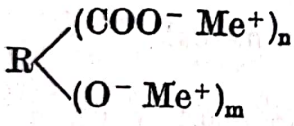
În legătură cu efectul de activare, al substanței organice carbonatate din sol, s-a relatat și despre un efect de activare a azotului din îngrășămînt asupra eliberării azotului din substanța organică. Ca urmare a primelor lucrări întreprinse de Broadbent și Norman (1947), un număr de cercetători au observat că adăugarea azotului sub formă de îngrășămînt determină o mai intensă mineralizare a azotului din humus.

Există păreri după care efectul de activare are loc rar în sol sau este chiar inexistent. Jenkinson (1963) Simson şi Freney (1967), apreciază că este vorba de un efect aparent, datorat unui schimb izotopic între ^{15}N din amoniul încorporat şi azotul din sol. Feigin şi colab. (1970) au demonstrat însă realitatea fenomenului, Jenkinson (1970) însuşi admiţînd în prezent existenţa unui proces de activare, pozitiv sau negativ, în funcţie de condiţiile ecologice.

d. Materia organică şi structura solului. Solul este format din particule fine, organominerale, care se unesc între ele prin substanţe ce joacă rol de lianţi, datorită unor caracteristici fizico-chimice. Particulele obţinute se unesc la rîndul lor formînd altele de dimensiuni superioare, pînă ce ating mărimile cunoscute la analiza granulometrică a solului, cele mai favorabile din punct de vedere agronomic avînd diametrul de 2—5 mm.

Studiind procesele pe care se bazează structura solului, Alexandrova şi colaboratorii (1974) găsesc următoarele tipuri de coloizi:

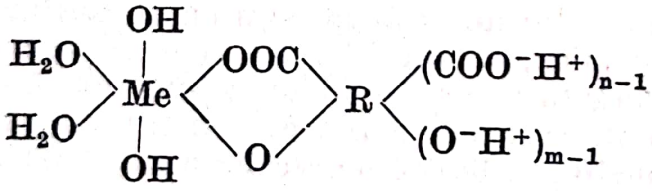
— săruri heteropolare (humaţi şi fulvaţi liberi, respectiv sărurile lor cu calciu, magneziu, sodiu, potasiu, amoniu), cu legătură ionică heteropolară. Schema constituţiei lor ar fi:



în care: Me = Ca, Mg, Na, K, NH_4.

Acestea intră uşor în reacţii de schimbare a cationului:

— săruri heteropolare complexe (acizi alumo şi ferohumici, precum şi sărurile lor cu baze tari), cu legătură coordinativă şi constituţie de tipul:



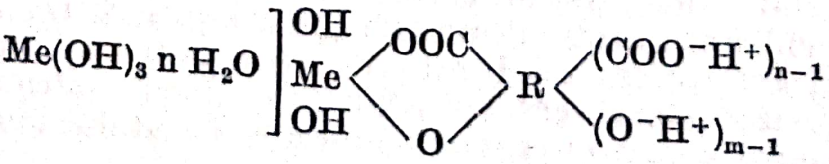
în care: Me = Al,Fe

Ele se descompun la un pH sub 4,5 sau mai mare de 10.

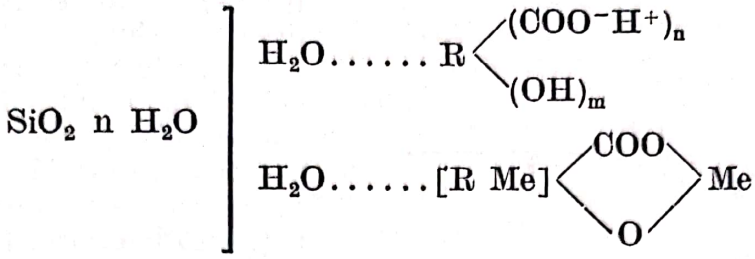
Aceste tipuri de coloizi apar în asociaţii, microagregate, ca straturi la suprafaţa particulelor coloidale sau a celor mai grosiere din sol:

— a treia categorie o formează complexele sorbite, care apar în sol ca particule coloidale libere, microagregate sau straturi la suprafaţa particulelor de sol mai grosiere. Din punct de vedere chimic ele pot fi:

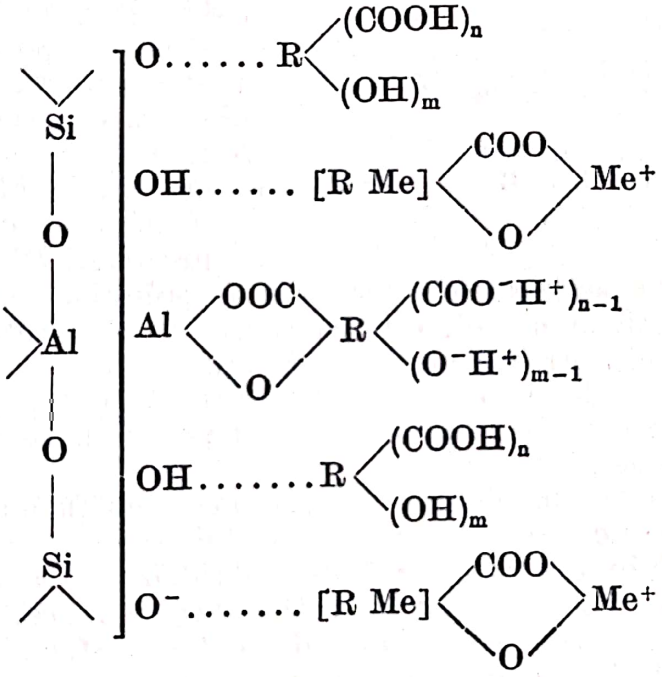
Compuşi alumo şi ferohumici, datoraţi chemosorbţiei şi instabili în mediul acid (la pH sub 3):



Complexe crenohumice, datorate forțelor de adeziune:



Complexe argilohumice (cu argile montmorillonitice, caolinitice etc.) în care intră în acțiune atît forțe de chemosorbție, cît și de adeziune:



Legăturile între particule pot fi rupte pe cale mecanică sau prin înlocuirea ionilor metalici polivalenți cu ioni metalici monovalenți. Acțiunea omului este adesea o cauză a pierderii structurii (prin lucrări de afînare, care sporesc viteza de oxidare a materiei organice, prin acțiunea de activare a îngrășămintelor cu azot, dar mai ales prin irigare, care intervine pe căi multiple: accelerarea descompunerii materiei organice, a tasării, înlocuirea calciului cu sodiu în complexul solului etc.).

Păstrarea structurii și porozității solului influențează recolta pe multiple căi, tratate pe larg în capitolele 3 și 4 ale lucrării. Din figura 3 se vede însă că recolta crește cu aerația pînă la o porozitate de 10%.

Pentru refacerea structurii solului sînt necesare două condiții:

— o sursă de materie organică și

— microorganisme capabile să o transforme.

Materia organică intervine în structurarea solului prin trei factori:

— acțiunea mecanică a microorganismelor;

— acțiunea de cimentare a produșilor de descompunere ai materiei organice;

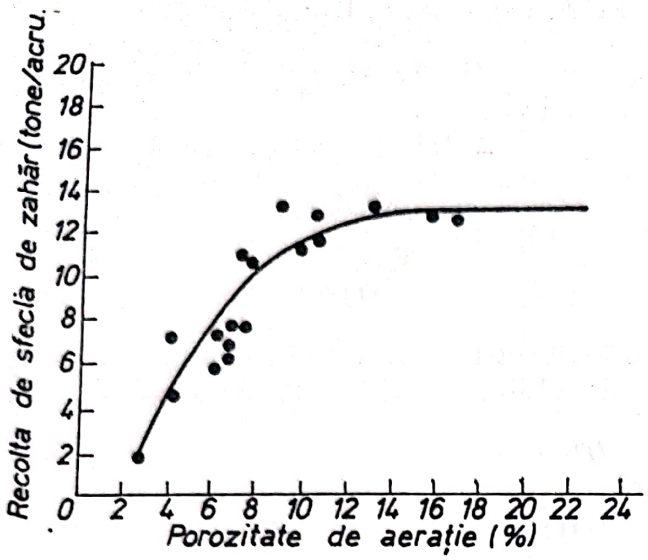


Fig. 3. Relaţia dintre porozitatea solului şi recolta de sfeclă (după B o v e r, 1968).

— acţiunea de cimentare a produşilor de sinteză ai microorganismelor.

Există un acord deplin în a considera ciupercile ca avînd contribuţia principală în structurarea solului. M a r t i n (1945) consideră egal de importantă acţiunea bacteriei *Bacillus subtilis*, care produce nişte substanţe mucilaginoase numite levane (polimeri ai fructozei). W a t s o n şi S t o j a n o v i c (1965) acordă şi ei o importanţă deosebită în structurarea solului bacteriilor care produc mucilagii. Acţiunea ciupercilor se datorează în egală măsură atît efectului mecanic, cît şi producerii de mucilagii (S w a b y, 1949).

Cea mai mare parte a autorilor atribuie polizaharidelor rolul major de liant al particulelor de sol. G r e e n l a n d şi colaboratorii (1962) aduc în sprijinul acestei afirmaţii următoarele argumente:

— încorporarea de polizaharide structurează solul;

— numeroase organisme produc în sol polizaharide în timpul folosirii surselor de energie;

— polizaharidele reprezintă 5—20%, din compoziţia materiei organice;

— extragerea polizaharidelor din sol distruge structura acestuia.

Structura solului este asigurată de polizaharide cu moleculă mare, bogate în grupări alcoolice, aminice, carboxilice, fenolice. Dintre acestea, M a r t i n şi colab. (1973) acordă un rol esenţial fosfomananelor produse de ciuperci în sol. Aceste polizaharide sînt utilizate ca sursă de energie de unele microorganisme. Adaosul de azot mineral grăbeşte mineralizarea şi destructurarea solului (H a r r i s şi colab., 1963).

M e h t a şi colaboratorii (1960) nu sînt de acord cu afirmaţia că polizaharidele sînt acelea care structurează solul. Ei atribuie rol esenţial în acest proces, acizilor humici, deoarece în experienţele lor oxidarea polizaharidelor nu a modificat structura solului, în timp ce distrugerea ligninei şi a humusului a modificat-o considerabil. Aceste păreri au fost confirmate recent de A s p i r o s şi colab. (1971), care au demonstrat că speciile genului *Aspergillus* stabilizează agregatele de sol prin producerea unor substanţe asemănătoare ligninelor.

2.1.4. Importanţa ecologică a energezei

Mediul edafic trebuie considerat în primul rînd ca un sistem de transformare a energiei, supus legilor termodinamicii, energeticii, cibernetici (G h i n e a şi colab. 1965; M a n i l, 1971). El poate fi privit

ca un sistem deschis, dependent de materialul energetic pe care-l primește de la sistemul supraterestru reprezentat de fitocenoza instalată la suprafața sa. Solul primește materialul energetic sub formă de compuși reduși ai carbonului, pe care-i oxidează pînă la bioxid de carbon și apă. Solul determină la rîndul său fitocenoza instalată, între altele și prin cantitatea de bioxid de carbon eliberată și care constituie principala sursă de carbon a acestei fitocenoze.

Dependența absolută a proceselor ce se desfășoară în sol de aportul extern de material energetic este determinată de preponderența în sol a proceselor heterotrofe față de cele autotrofe.

Încorporarea materialului organic (foarte diferit) are ca urmare nu numai sporirea cantității de energie disponibilă, dar și creșterea heterogenității (scăderea entropiei).

Grupele de microorganisme care atacă resturile vegetale proaspăt încorporate în sol se caracterizează prin aceea că folosesc substanțe bogate în energie și ușor de descompus. Accesul lor la aceste substanțe este asigurat de capacitatea de creștere foarte rapidă, ce le permite să invadeze substratul înlăturînd concurenții. Acest grup de microorganisme a fost denumit de Winogradsky „flora zimogenă".

Utilizarea substanțelor organice bogate în energie și slab polimerizate are ca urmare o scădere a cantității de energie și o anumită uniformizare a materiei organice. Materia organică nou creată este proprie solului (humus). Humusul fiecărui sol se caracterizează printr-un anumit raport în care se găsește elementul energetic și cel azotat, (raport C :N). Aliev (1964) arată că numărul de calorii înmagazinate în substanța organică a solului determină o creștere paralelă a conținutului său în azot. Humificarea trebuie privită în acest sens ca un proces de stabilizare a entropiei solului (Kleinhempel, 1972).

Microorganismele care folosesc în metabolism substanța organică a solului, au la îndemînă cantități mult mai restrînse de energie, sub forma unor substanțe cu un grad înalt de polimerizare, ciclizate, greu de mobilizat. Aceste microorganisme, adaptate pentru o creștere lentă, formează așa-numita „floră autohtonă".

Viteza cu care se desfășoară în sol procesele de transformare a resturilor organice în humus și de reutilizare a humusului de către microorganisme este însăși conținutul noțiunii de *fertilitate a solului* (Kleinhempel, 1971), care astfel poate fi exprimată ca o creștere a entropiei în unitatea de timp. Entropia ecosistemului este menținută printr-un mecanism feed-back de reglare a proceselor humificare-mineralizare (de Meixner și Schaeffer, 1973).

Deși concepția lui Winogrodski despre flora autohtonă și zimogenă a fost uneori supusă unor critici severe (Rovira, 1956), cercetări mai recente (Clark, 1967) au confirmat în liniile sale generale valabilitatea acestui concept.

Winogradsky (1928) aprecia că „funcțiile microbiene în sînul mediului natural fiind reglate de competiția pentru alimentul energetic, nu putem înlocui în întregime acest factor biologic".

În lumina principiilor moderne ale studierii biocenozei, acest punct de vedere apare ca deosebit de actual. „Factorul care cel mai adesea (și

în cea mai mare măsură) limitează creşterea masei microbiene în sol, este insuficienţa substratului adică a carbonului organic pentru heterotrofi" (Alexander, 1964).

Dovada decisivă în acest sens a fost adusă de către Klein şi Casida (1967) prin studierea aşa-numitului proces de autopurificare a solului. După cum se ştie de multă vreme, microorganismele patogene şi facultativ patogene nu pot supravieţui în sol decît un timp limitat. Factorul care le limitează existenţa îl constituie activitatea normală a microflorei solului. S-a presupus că eliminarea microorganismelor nespecifice solului se datoreşte producerii substanţelor antibiotice. Producerea de antibiotice are loc intens numai în prezenţa unor mari cantităţi de material energetic (Woodruff, 1966). Deci supravieţuirea în sol a microbilor facultativ patogeni ar trebui să fie invers proporţională cu cantitatea de material energetic. S-a constatat însă că *Escherichia coli*, este eliminată din sol în mod normal, însă adaosul de glucoză îi asigură supravieţuirea pe timp practic nelimitat.

În solul fără adaos de glucoză, *Escherichia coli* piere repede mai ales sub cultura de trifoi, adică acolo unde există un mare număr de microbi, concurenţa pentru materialul energetic fiind maximă (Fedorov, 1957).

Prin urmare autopurificarea solului nu se realizează prin substanţe cu acţiune antimicrobiană, ci prin concurenţa pentru sursele de energie. Microorganismele solului sînt mai competitive decît alte microorganisme. S-a demonstrat în acest sens că inoculînd un sol sterilizat cu un amestec de ciuperci provenind din diferite medii, după patru luni supravieţuiesc numai speciile proprii solului (Alexander, 1964).

Se ştie de asemenea că solul inhibă germinarea sporilor de ciuperci (aşa-numitul fenomen de micostază). Dobbs şi colab. (1960), consideră că micostaza se datoreşte prezenţei în sol a unui antimetabolit. În prezent însă se acceptă (Griffin, 1962; Lockwood şi Lingappa, 1963) că micostaza este un efect natural al metabolismului saprofit al microflorei, realizîndu-se prin contribuţia a numeroase microorganisme antagoniste şi neantagoniste.

Utilizarea energiei în sol se realizează după aceleaşi principii ca şi într-un organism viu, adică prin descompunerea treptată a produşilor bogaţi în energie, pentru o mai eficientă consumare a lor. În plus, microorganismele din sol deşi sînt apte să folosească în cultură pură foarte multe substanţe organice, sînt adaptate pentru a consuma eficient numai cîteva din ele, ceea ce permite existenţa simultană a foarte numeroase grupe de microorganisme. Cu cît un sol are o microfloră mai variată, cu atît el este capabil să folosească mai complet elemetul energetic (Primavesi şi Covolo, 1968).

În rizosferă, unde sortimentul de substanţe energetice este mai puţin variat şi alcătuit din produşi mai simpli, coexistă mai puţine specii. Datorită cantităţii absolute mai mari de material energetic însă, fiecare din aceste specii este reprezentată de un număr mai mare de indivizi. Deosebirea între sol şi rizosferă (ca număr de specii şi număr de indivizi) se conformează principiului lui Thienemann, după care în sisteme neuniforme (de exemplu solul) numărul de specii este mare şi

Scanned with OKEN Scanner

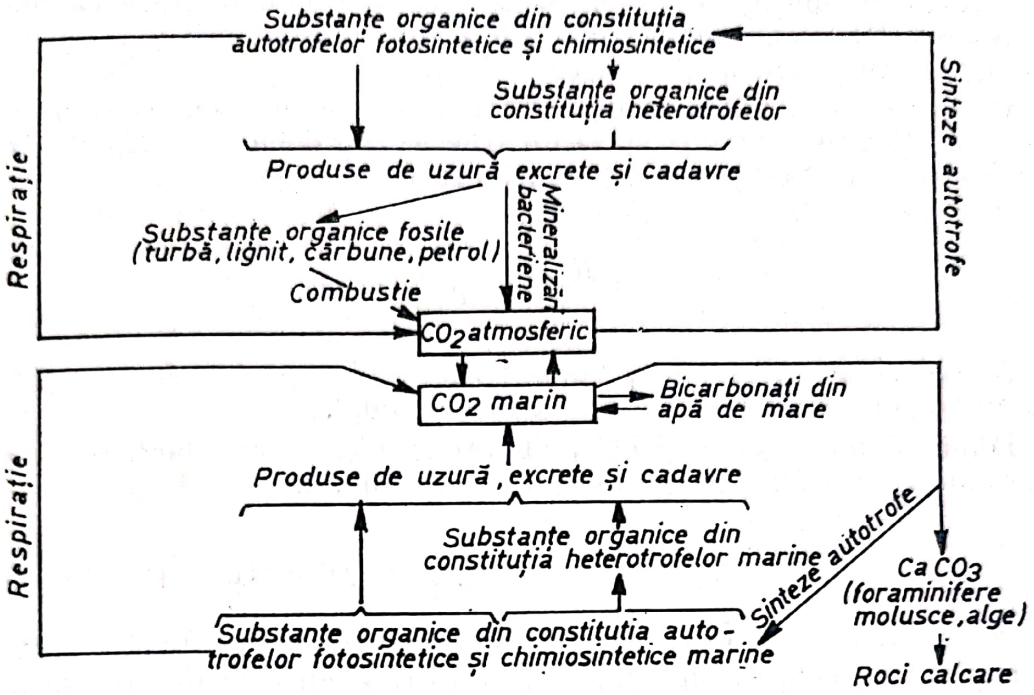


Fig.4. Circuitul carbonului în natură (după F l o r k i n, 1943)

numărul indivizilor este redus, în timp ce în medii uniforme situația este inversă. Acest principiu are valoarea de lege ecologică universal-valabilă.

Utilizarea diferențiată a diferitelor surse de energie de către grupele de viețuitoare, are drept urmare așa-numita circulație a carbonului în natură. Schematic ea poate fi reprezentată ca în figura 4. În rezumat, viața tuturor organismelor este posibilă prin cuplarea unor reacții de sinteză (consumatoare de energie) cu reacții exoterme. Această cuplare poate avea loc numai cu pierdere de energie. Pierderea de energie nu este însă egală pentru toate organismele. Creșterea entropiei este mai mare la bacterii decît la ciuperci. Din acest punct de vedere ciupercile pot fi considerate ca microorganisme adaptate pentru o consumare foarte eficientă a sursei de energie (F o r s t e r, 1949). Afirmația aceasta este valabilă sub două aspecte:

— posibilitatea de a folosi energia substratului cu creșteri relativ reduse de entropie;

— posibilitatea de a folosi integral materialul energetic din substrat, inclusiv substanțele înalt polimerizate sau ciclizate.

Pentru aprecierea eficienței cu care este folosit substratul, P f e f f e r (1897) propune următorul coeficient:

$$K = \frac{M}{T}$$

în care:

M este masa sintetizată;
T — 100 g materie organică.

Principala obiecţie care s-a adus acestui coeficient este că nu ţine seama de valoarea energetică diferită a substanţelor organice (mai mică pentru glucide şi mai mare pentru lipide).

Rubner (1906) a stabilit că valoarea energetică a substratului este proporţională cu valoarea sa de ardere. El înlocuieşte valorile M şi T din formula lui Pfeffer cu valorile calorice respective :

$$K = \frac{CM}{CT}$$

Pentru *Aspergillus niger*, valoarea acestui raport a fost de 52—60, în timp ce pentru *Escherichia coli* a fost de 30,8.

După Waksman (1932), ciupercile folosesc 30—60% din energie, bacteriile aerobe 10—20%, iar cele anaerobe, numai 1%.

2.2. METABOLISMUL PLASTIC ÎN SOL

Procesele de scindare, care constituie principala sursă de energie, sînt cuplate cu cele de sinteză, în primul rînd cu cele de sinteză a proteinei microbiene specifice. În aceste procese, microorganismele folosesc carbonul nu numai ca sursă de energie, ci şi ca material de sinteză. Nevoia de carbon pentru sinteză este mult mai mică însă. Sinteza proteinei microbiene presupune totodată şi existenţa unei surse de azot utilizabil. Pentru microorganismele specializate în scindarea unor compuşi bogaţi în energie şi săraci în azot, acest element poate fi un factor limitativ. Acesta este cazul microorganismelor celulolitice care utilizează o parte azot la 30 părţi celuloză scindată. În acest caz, microorganismele îşi completează nevoia de azot din rezerva minerală a solului. Are loc o aşa-zisă „blocare a azotului mineral" în sol, acesta fiind trecut sub formă de proteină microbiană, inaccesibilă plantelor.

Acest fenomen este binecunoscut specialiştilor agronomi, în cazul particular al încorporării paielor în sol. Are loc astfel o scădere aparentă a rezervei de azot mineral a solului, care trebuie compensată printr-o doză suplimentară de îngrăşămînt mineral. Prin urmare, solul ca sistem deschis, depinde aproape în întregime de vegetaţia supraterestră, în ceea ce priveşte aprovizionarea cu energie : cu cît vegetaţia supraterestră va fi mai abundentă, în sol va ajunge o cantitate mai mare de energie. Dat fiind că azotul este, în general, factorul plastic aflat în sol la un nivel minim (Rippel-Baldes, 1955) şi că planta utilizează practic în nutriţie numai azot mineral (care în sol se află în cantităţi reduse), recolta vegetaţiei supraterestre depinde de cantitatea de azot mineral care se produce în sol prin procesele microbiene de mineralizare. Rezultă o corelaţie directă între cantitatea de azot mineralizată din sol şi cantitatea de material energetic ce ajunge în sol, precum şi o corelaţie inversă între cantitatea de material energetic încorporat şi cantitatea de azot mineralizată.

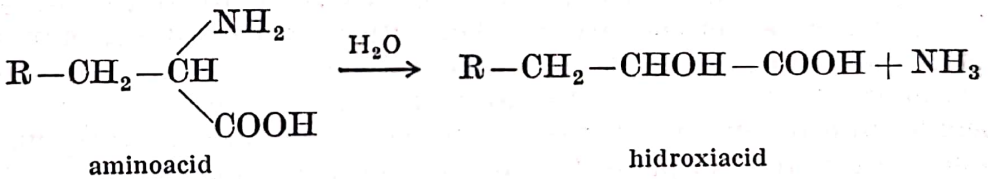
Scanned with OKEN Scanner

2.2.1. Circuitul biologic al azotului în sol

În sol există numeroase substanțe organice azotate : proteine, aminoacizi etc. O parte a acestor substanțe aparține materiei organice a solului, altă parte ajunge în sol sub formă de deșeuri de natură animală și vegetală. Procesul prin care substanța proteică este descompusă se numește proteoliză și are loc în afara celulei microbiene, fiind datorată exoenzimelor proteolitice eliminate în sol de către unele specii microbiene aerobe, dintre care mai active sînt bacteriile din genurile : *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, precum și speciile sporogene : *Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *B. mesentericus*, *B. cereus var. mycoides*, *B. megaterium*, ciuperci ca : *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Rhizopus* și bacterii anaerobe din genul *Clostridium*. Cantitatea de proteaze a solului este firește sporită prin enzimele proteolitice de origine animală și vegetală care ajung în sol odată cu încorporarea deșeurilor. Prin procesul de proteoliză, compușii de natură proteică sînt aduși la stadiul de aminoacizi. Alți aminoacizi ajung în sol necombinați în compuși macromoleculari. Numeroase microorganisme produc enzime nucleazice extracelulare care fracționează acizii nucleici. Prin defosforilare și hidroliză se ajunge la zaharuri și baze azotate.

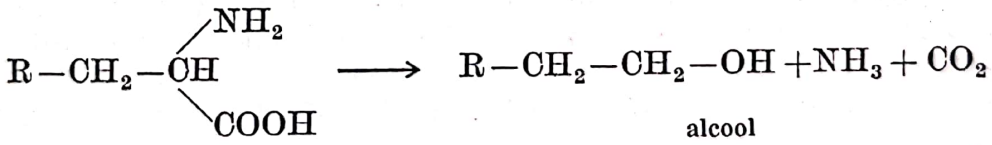
a. **Amonificarea**. Procesul prin care microorganismele din sol eliberează amoniacul din molecule organice azotate se numește amonificare, iar reacția cea mai des întîlnită este dezaminarea. Dezaminarea se poate petrece în sol în mai multe feluri :

— *dezaminarea hidrolitică :*



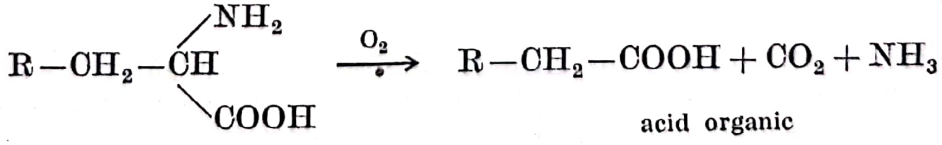
aminoacid hidroxiacid

— *dezaminarea hidrolitică însoțită de decarboxilare :*



alcool

— *dezaminarea oxidativă (cu decarboxilare) :*

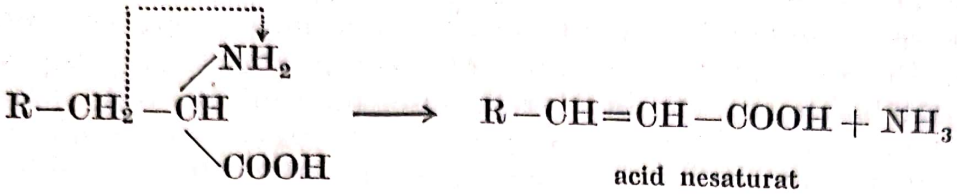


acid organic

— *dezaminare reducătoare* din care rezultă acizi grași și amoniac (în condiții de anaerobioză) ;

— *dezaminare reducătoare cu decarboxilare*, în care caz se produc hidrocarburi, bioxid de carbon şi amoniac;

— *dezaminare cu desaturare:*



— *dezaminare prin reacţii de oxidoreducere între doi aminoacizi* (reacţii de tip Stickland), în care unii aminoacizi joacă rol de donatori de hidrogen, alţii de acceptori. Astfel *Clostridium sporogenes* poate trăi anaerob oxidînd aminoacizi ca : alanină, leucină, valină, fenilalanină, acid aspartic, acid glutamic, cu ajutorul altor aminoacizi care joacă rol de acceptori de hidrogen (glicină, prolină, hidroxiprolină).

Reacţia de tip Stickland este caracteristică pentru toate speciile proteolitice ale genului *Clostridium* care folosesc α cetoacizii rezultaţi din reacţie ca sursă de energie.

După cum rezultă din cele spuse anterior, amonificarea poate avea loc, atît aerob cît şi anaerob. Amonificarea anaerobă este însă mult mai lentă şi poate duce la acumularea în sol a unor produşi toxici pentru plante sau pentru alte microorganisme.

În afara aminoacizilor şi a proteinelor, în sol se amonifică şi alte substanţe ce conţin azot : baze azotate, lecitină, acid uric şi hipuric, uree, cianamidă de calciu. Un caz particular îl constituie ureea care se poate amonifica şi în lipsa celulelor microbiene active, deoarece de obicei în sol se acumulează enzima specifică, ureaza. Amonificarea ureei dată, ca îngrăşămînt, este foarte rapidă, fapt care poate duce în anumite condiţii climatice la pierderi de azot amoniacal prin volatilizare.

Speciile microbiene implicate în procesul de amonificare nu sînt prea bine cunoscute. Capacitatea de a produce amoniac din diferite substanţe (mai ales aminoacizi) este larg răspîndită în lumea microbiană. Nu toate speciile care în cultură pură produc amoniac din compuşi azotaţi, participă la procesul de amonificare în sol. După V o e t s şi colab. (1955), S a t o şi F u r u s a k a (1974) cei mai obişnuiţi amonificatori sînt bacteriile nesporogene cu creştere rapidă.

Agenţii amonificatori diferă desigur în funcţie de substanţa amonificabilă.

Există o ordine de preferinţă generală a microorganismelor în utilizarea aminoacizilor : este preferată în primul rînd asparagina, apoi acidul glutamic şi alanina, în timp ce aminoacizii ce conţin sulf sînt mai greu descompuşi.

Introducerea în sol a unui aminoacid duce la îmbogăţirea acestuia în microorganisme capabile de a-l metaboliza. Acest sol descompune mai rapid şi alte substanţe mai apropiate ca structură : solul îmbogăţit în microorganisme, ca urmare a introducerii lecitinei, degradează rapid şi alanina şi asparagina. Fenomenul de îmbogăţire a solului are implicaţii deosebite în depoluarea solurilor tratate cu pesticide.

Scanned with OKEN Scanner

Amoniacul produs în sol este în parte fixat pe complexele argilo-humice. O altă parte se fixează în plasma microorganismelor (în funcție de cantitatea de carbon organic asimilabil), iar o altă parte rămîne în sol.

Cantitatea de amoniac fixat în plasma microorganismelor, depinde de cantitatea de material energetic existent pentru unitatea de azot. Microorganismele utilizează maximum de azot și material energetic, iar excesul de azot neasimilabil din cauza lipsei de energie se acumulează în sol ca azot mineral.

De aceea, cantitatea de azot mineral produs în sol depinde de raportul în care carbonul și azotul se găsesc în materialul organic.

Microorganismele utilizează 4/5 din carbonul organic ca aliment energetic și 1/5 pentru constituirea proteinei specifice care are un raport C/N=5/1. De aceea dintr-un material organic cu raport C : N=25 nu se va produce deloc azot mineral. Dacă raportul este mai mare, se consumă din azotul mineral existent în sol (aceasta este cazul paielor la a căror încorporare în sol se cere un supliment de azot mineral). La raporturi C : N mai mici de 25, în sol se produc cantități crescînde de azot mineral, neutilizabil biologic din lipsă de energie accesibilă.

Capacitatea solului de a produce prin mineralizare cantități cît mai mari de azot mineral îi asigură de fapt fertilitatea sa în raport cu azotul. În acest fel, cantitatea de azot mineralizat, reprezintă măsura productivității solului în raport cu azotul.

Nu trebuie omis în același timp faptul că azotul mineralizat din humus este și o măsură a pierderii de materie organică din sol.

Considerînd materia organică a solului ca purtătoare a însușirilor de fertilitate potențială (prin înmagazinarea de elemente chimice necesare plantelor, prin îmbunătățirea proprietăților solului de a reține apa, prin structurarea solului etc.) rezultă că azotul mineral produs este o măsură a pierderii fertilității potențiale.

Amoniacul produs prin procesul de amonificare se acumulează numai în solurile acide sau slab aerate. De cele mai multe ori el suferă o serie de procese prin care se oxidează la azot nitric.

b. **Nitrificarea** este un proces ce se desfășoară în două etape de către specii diferite de microorganisme (unele oxidează amoniacul la nitrit, altele nitritul la nitrat) strict autotrofe. Acestea folosesc ca sursă de carbon, bioxidul de carbon și carbonații, iar ca sursă de azot și energie, amoniacul și respectiv nitriții.

Bacteriile din acest grup preferă medii alcaline (pH=8,3—8,9) dar suportă și medii slab acide (Arnd, 1919; Winogradsky, 1944).

Indiferent însă de toleranța față de pH, calciul este absolut indispensabil pentru nitrificare. Sînt necesare de asemenea fierul, fosforul și magneziul. Molibdenul, borul, vanadiul, wolframul și litiul în cantități mici stimulează nitrificarea.

Bacteriile nitrificatoare sînt organisme strict aerobe. Nitrificarea poate avea loc cu maximum de intensitate numai atunci cînd este asigurat accesul aerului. Amer și Bartholomew (1951) au pus în evidență corelația dintre nitrificare și condițiile de aerație.

Dat fiind că există un anumit antagonism între aer și apă, excesul de umiditate a solului poate împiedica nitrificarea (Hulpoi și colab.,

1966). Bacteriile nitrificatoare sînt sensibile în aceeaşi măsură şi la uscarea solului (nu suportă o uscare la un pF mai mare de 4,5). Nitrificarea este optimă la condiţii de umiditate corespunzătoare la valori pF de de 1,0—2,0. A fost descrisă şi o nitrificare heterotrofă demonstrată de către Schmiddeg (1954) dar care are totuşi, după cum se pare, o pondere neînsemnată în procesul larg al nitrificării în sol, fiind de circa 50 de ori mai puţin intensă decît nitrificarea autotrofă (Campbel şi Lees, 1967).

Unii autori (Rao, 1934; Dhar, 1935) au afirmat că nitrificarea poate avea loc în sol şi pe cale abiotică, printr-un efect fotochimic. Lucrările lui Fraps şi Sterges (1935) şi Waksman şi Madhok (1937) au infirmat această ipoteză. Pornind de la ideea că plantele pot folosi şi azotul amoniacal, numeroşi cercetători au emis ipoteza că nitrificarea este un stadiu neesenţial pentru transformările azotului din sol, ba chiar dăunător (nitraţii pot fi spălaţi din sol, iar amoniacul nu; nitraţii se pierd prin denitrificare la azot gazos, pe cîtă vreme volatilizarea amoniacului are loc numai în condiţii speciale). S-a propus chiar (Goring şi Cleve, 1962), inhibarea nitrificării cu substanţe specifice.

Firește, se cunosc numeroase lucrări în care se arată că există o foarte bună corelaţie între intensitatea nitrificării în sol şi recolta plantelor cultivate, dar ele nu pot fi aduse ca argument în această discuţie, deoarece aici, intensitatea nitrificării este luată ca indice general al posibilităţii solului de a aproviziona plantele cu azot. Dimpotrivă, experienţa lui Fred (citat după Pochon şi Barjac, 1958) constituie un argument decisiv. El a crescut plante în mediu steril, la care a adăugat amoniu într-o variantă şi amoniu + bacterii nitrificatoare la alta. Experienţa a arătat că în mediu steril fără azot creşterea masei vegetale a fost neînsemnată (1,5 g/vas). După adausul de azot amoniacal, masa a crescut la 66,5 g/vas, iar prin inocularea de bacterii nitrificatoare la 116 g/vas.

Explicaţia efectului bacteriilor nitrificatoare constă în aceea că plantele pot absorbi în cantităţi mai mari numai azot nitric. În solurile normale, un adaos de bacterii nitrificatoare nu poate avea însă nici un efect.

Inhibarea nitrificării pe o perioadă limitată de timp poate avea efect favorabil prin aceea că menajează nitrificarea substratului într-o perioadă în care planta consumă puţin azot făcînd ca maximumul de intensitate al acesteia să coincidă cu cerinţele fiziologice ale plantei.

Nitratul format în sol este utilizat pentru acoperirea nevoilor metabolice ale microflorei şi ale plantelor superioare. O parte din nitrat se pierde, cum s-a arătat, prin levigare. O altă parte se poate pierde prin utilizarea oxigenului din molecula sa în respiraţia unor microorganisme anaerobe sau facultativ-anaerobe.

c. **Denitrificarea.** Termenul de „denitrificare" este foarte imprecis, deoarece după unii autori, el ar îngloba o sferă mai largă, transformarea azotului în ori ce altă formă mai redusă decît NO_3^-, în timp ce pentru alţii, denitrificarea poate fi denumită numai reducerea NO_3^- la N_2, singura

pierdere reală din punct de vedere agricol, deoarece reducerea la nitriți sau amoniac este un fenomen reversibil.

Toate organismele vegetale, de la bacterii la plante cultivate, posedă un echipament enzimatic care le permite să reducă nitrații și să utilizeze astfel azotul asimilat, la formarea aminoacizilor. Aceasta este așa-numita „nitratreductază asimilatorie". Reducerea nitratului se face cu consum de energie.

Reducerea nitratului la nitrit reprezintă stadiul inițial al procesului în toate cazurile. Mai departe, reducerea are loc tot cu consum de energie. (în schemă se omite aspectul energetic):

$$2HNO_2 + 2H \longrightarrow NO_2NHOH + H_2O$$

$$NO_2NHOH + 2H \longrightarrow HNO_2 + NH_2OH$$

$$NH_2OH + 2H \longrightarrow NH_3 + H_2O$$

Unele microorganisme posedă însă și o „nitratreductază disimilatorie" care în anumite condiții servește pentru suplinirea nevoilor respiratorii. În mod normal, în organism, transportul de electroni în reacțiile oxidative are loc cu ajutorul citocromilor, care-i cedează citocromoxidazei și aceasta, oxigenului. În anumite condiții însă, citocromul *c* îi cedează nitratreductazei și aceasta, compușilor oxidați ai azotului.

Nitratreductaza „disimilatorie" pornind de la NO_2NHOH, acționează astfel :

$$NO_2NHOH + 2H \longrightarrow N_2O + 2H_2O$$

$$N_2O + 2H \longrightarrow N_2 + H_2O$$

Schemele prezentate nu sînt pe deplin exacte, dar prezintă aproximații relativ juste.

Se pune problema dacă există într-adevăr două nitratreductaze sau o singură enzimă care acționează diferit în funcție de condițiile de mediu. A doua presupunere a fost demonstrată ca justă, prin teste serologice efectuate la *Escherichia coli*. Numeroase microorganisme (45% din tulpinile testate) posedă diferite nitratreductaze, cu și fără molibden (S a d a n a și M c E l r o y, 1957; L a s a d a și colab., 1969), cu rol asimilator.

Reducerea compușilor cu azot la azot gazos pare a fi apanajul unui grup bine individualizat de specii microbiene (4% din tulpinile cercetate, după P o c h o n și d e B a r j a c, 1958). Aceste microorganisme, deși descrise de multă vreme, sînt foarte imprecis clasificate. Reprezentatul tipic este *Pseudomonas stutzeri*.

Reducerea nitraților are loc în condiții de anaerobioză și în prezența unei cantități importante de material energetic.

În calitate de material energetic sînt folosiți adesea produșii metabolismului anaerob ai celulozei.

Teoretic, dacă un organism poate folosi ca acceptor atît oxigenul, cît și nitrații, oxigenul va fi cel preferat. Reducerea azotului este, din punct de vedere chimic, posibilă numai la tensiuni joase de oxigen. Condițiile pentru formarea azotului molecular sînt mult mai drastice decît cele

necesare pentru formarea amoniacului (şi cu atît mai mult a nitriţilor). Totuşi, *Denitrobacter licheniformis* reduce activ nitraţii chiar în condiţii de aeraţie intensă.

La procesele de denitrificare participă şi unele bacterii chemoautotrofe (de exemplu *Thiobacillus denitrificans*).

Umiditatea solului favorizează denitrificarea prin efectul antagonist al apei faţă de aer, dar chiar la un conţinut egal de oxigen denitrificarea creşte în solurile umede, prin împiedicarea liberei circulaţii a aerului în sol. Wiljer şi Delwich (1954) au observat că la acelaşi conţinut de oxigen, denitrificarea creşte de 20 de ori dacă umiditatea creşte de la 10 la 30%.

Nu se pot da cifre sigure cu privire la efectul denitrificării asupra economiei azotului în sol. Waksman (1932) aprecia denitrificarea drept un fenomen rar, patologic aproape, pentru sol. Chapman şi colaboratorii (1949) arătau că, fie chiar şi în condiţii normale, se pierd prin denitrificare circa 120 kg/ha nitraţi pe an.

Există o opinie cvasiunanimă după care denitrificarea este un proces negativ în raport cu nevoile omului, datorită pierderilor de nitraţi produse. Trebuie să observăm că în solurile cu exces de umiditate nitraţii se pierd în orice caz : ei se spală în apa freatică, cauzînd mari neajunsuri prin eutrofizarea apelor de suprafaţă. Denitrificarea este probabil un rău mai mic decît levigarea nitraţilor. De asemenea, în solul neaerat se produc diferite substanţe toxice pentru plante, în special etilenă. Reducerea nitraţilor, producînd o oarecare cantitate de oxigen atenuează acest efect. Prin urmare trebuie să revizuim concepţia noastră în acest domeniu. Fenomenul negativ este băltirea apei, care trebuie combătută prin toate mijloacele, iar denitrificarea este soluţia găsită de natură acestui păgubitor fenomen.

d. **Fixarea azotului.** Dacă rezervele de azot din sol sînt limitate, ceea ce permite existenţa unui dezechilibru frecvent întîlnit între nevoia de azot şi posibilitatea de a o satisface, dimpotrivă, rezerva de azot atmosferic este practic inepuizabilă (circa 79% din volumul atmosferei, adică o rezervă pentru 800 000 de ani). Din păcate, plantele nu pot folosi direct azotul molecular, necombinat ; de aceea, ele sînt dependente numai de circulaţia azotului din sol. Suplinirea nevoii de azot a plantelor cu produse industriale nu poate depăşi un anumit punct. Reintroducerea întregii cantităţi de azot mineral consumat prin recoltă este rentabilă numai pentru un grup restrîns de ţări cu agricultura foarte intensivă pe suprafeţe mici (Japonia, Olanda). În alte ţări (între care S.U.A.) se introduce prin îngrăşăminte numai o treime din azotul exportat.

Folosirea unor doze mai mari de azot, care să acopere în întregime pe cel scos prin recoltă, asigură în continuare sporuri de producţie, dar nerentabile. Prin urmare, folosirea îngrăşămintelor este în prezent economică numai în măsura în care acestea se utilizează ca adaos la azotul obţinut prin mineralizarea substanţelor organice azotate din sol. Agricultura nu poate să se lipsească în prezent de aportul de azot din substanţa organică a solului.

După cum s-a văzut, o cantitate redusă de azot combinat ajunge în sol odată cu ploile. Importanţa acestui aport este neglijabilă pentru

Scanned with OKEN Scanner

masa continentelor (3—5 kg/ha în medie anuală; în orașele mari, cantitatea de azot crește pînă la 30 kg/ha anual).

Pentru înlocuirea azotului exportat prin recolte, s-au pierdut prin denitrificare, o importanță deosebită o are fixarea biologică a azotului molecular. Acest proces este însă realizat de un grup restrîns de specii microbiene (actinomicete, alge, bacterii aerobe și anaerobe, precum și bacterii care trăiesc în simbioză cu plantele leguminoase). În urma simbiozei bacterii-leguminoase, solul cîștigă anual 80—100 kg/ha azot, plus partea ce revine în sol odată cu deșeurile animalelor care consumă părțile aeriene ale leguminoaselor.

Problemele legate de fixarea simbiotică vor fi examinate mai pe larg în alt capitol; trebuie arătat însă că din păcate suprafața terestră ocupată cu leguminoase este foarte restrînsă.

Fixarea azotului de către bacteriile care trăiesc libere în sol poate fi realizată atît de către microorganisme aerobe, cît și de unele anaerobe. În ambele cazuri, microorganismele implicate își procură energia prin oxidarea substanțelor organice neazotate. Acest mod de nutriție care permite satisfacerea nevoilor energetice cu substanțe organice și a nevoilor plastice cu azot molecular, se numește „prototrof".

Între nutriția energetică și cea azotată există o corelație și în sensul că o anumită aprovizionare cu material energetic determină o anumită posibilitate de satisfacere a nevoilor azotate. Pentru folosirea azotului amoniacal, unele ciuperci necesită glucoză, în prezența glicerolului putînd folosi numai azotul nitric; *Penicillium frequentans* poate utiliza triazinele ca sursă de azot, proporțional cu cantitatea de glucoză din mediu (Ghinea, 1966).

Fixarea liberă a azotului are un randament mult mai scăzut decît cea simbiotică. Cantitățile de 5—15 kg/ha de azot (Rippel-Baldes, 1955; Feher, 1954), din punct de vedere agricol, sînt fără importanță. Pentru ansamblul biosferei procesul este însă demn de luat în seamă, deoarece interesează toate suprafețele agricole și neagricole, în primul rînd imensa suprafață acoperită de mări și oceane. Fixatorii de azot aerobi tipici, cel mai bine studiați, aparțin genului *Azotobacter* deși există cu siguranță fixatori și în alte grupe de microorganisme, dar care au un randament mai scăzut.

Fixatorii de azot anaerobi tipici aparțin speciei *Clostridium pasteurianum*.

Fixarea aerobă a azotului în sol crește paralel cu umiditatea pînă la valoarea capacității de cîmp, apoi scade; cea anaerobă crește liniar odată cu umiditatea. Oxigenul inhibă reversibil sau ireversibil, în funcție de concentrație, fixarea azotului (Hardy și colab., 1973). Acesta crește de trei ori cînd procentul de oxigen din aer scade de cinci ori (Parker, 1954).

Fixatorii de azot au cerințe deosebite față de prezența în sol a fosforului și calciului. De aceea, *Azotobacter chroococcum* se folosește ca organism-test pentru stabilirea nevoii solului în îngrășăminte fosfatice și amendamente calcaroase.

Printre diferite elemente necesare un loc aparte îl are molibdenul, indispensabil enzimelor care participă la fixarea azotului, borul a cărei

acţiune stimulatoare pentru fixarea azotului a fost descrisă de Voicu (1924), manganul al cărui efect a fost descris de Olaru (1920). Aluminiul şi fierul au efect stimulator, dar sînt toxice de la anumite concentraţii în sus.

Fixarea este stimulată de heteroauxină (pe care *Azotobacter* o produce în cantităţi apreciabile) şi vitaminele C, B_1 şi B_{12} (Rubencik, 1960; Kobayashi şi colab., 1963).

Factorii care limitează randamentul fixării azotului de către bacteriile nesimbiotice sînt reprezentaţi pe de o parte de slaba răspîndire a acestor microorganisme în sol, iar pe de altă parte, de cantităţile mici de azot fixat în raport cu materialul energetic consumat. Răspîndirea microorganismelor fixatoare de azot este limitată, probabil, de exigenţele lor faţă de alimentul energetic. Ele nu pot folosi substanţele bogate în energie aflate în cantităţi mari în sol: celuloze, hemiceluloze, lignine. De asemenea nu pot utiliza substanţele humice. Ele pot folosi hexoze, pentoze, diozide, poliozide, alcooli, acizi organici, care se găsesc în sol în cantităţi limitate şi în utilizarea cărora pot fi concurate de alţi germeni cu putere mare de mobilizare a substratului. Fixatorii de azot pot concura aceste microorganisme numai în cazul că în sol nu există suficient azot combinat.

Bacteriile aerobe fixatoare de azot folosesc alimentul energetic cu randament foarte înalt: 70% din carbonul consumat poate fi regăsit ca bioxid de carbon (Krishna, 1928). Cantitatea de azot fixat rămîne totuşi redusă (sub un gram la 100 g zahăr utilizat). Deşi randamentul folosirii alimentului energetic de către *Azotobacter* scade pe măsură ce creşte concentraţia acestuia, totuşi cantitatea absolută de azot fixat creşte. Randamentul fixării azotului în sol este probabil mult mai însemnat decît cel constatat la culturile pure, deoarece intervin o serie de substanţe stimulatoare de origine biotică sau abiotică. De asemenea au loc fenomene de suprafaţă care accelerează fixarea (în laborator s-a constatat că fixarea în nisip steril este mult mai activă decît în culturi lichide aerate continuu). Creşterea randamentului fixării este oricum limitată de cantitatea mare de energie cerută de însuşi procesul fixării.

Măsura principală prin care se poate accelera fixarea azotului în sol o reprezintă încorporarea de resturi celulozice, caz în care azotul existent în sol este în mare parte trecut sub forme inaccesibile germenilor heterotrofi. În acest fel se asigură fixatorilor de azot accesul la materialul energetic existent, aceştia putînd totodată folosi produşii de descompunere ai celulozei.

În sol există adevărate asociaţii între microorganismele celulolitice şi cele fixatoare de azot. Este posibilă chiar asocierea unui fixator aerob cu microorganisme celulolitice anaerobe, precum şi între un fixator anaerob şi microorganisme celulolitice aerobe.

O altă grupă importantă de fixatori de azot aparţine algelor albastre, care pot trăi în absenţa azotului combinat, dacă solul are un pH mai mare de 5,7 şi conţine mici cantităţi de molibden. Aceste microorganisme sînt autrotrofe şi au metabolismul cel mai simplu cunoscut. Cele mai multe alge albastre fixatoare produc heterochisti (Wyatt

și Silvey, 1969). Puține dintre ele sînt filamentoase (Haysted și colab., 1970; Stewart, 1971).

După observațiile făcute pe cenușa proaspăt rezultată din erupția vulcanului Krakatoa (Booth, 1941), s-a constatat că algele albastre asigură o primă colonizare a formațiilor pur minerale. În acest caz ele pot participa la alcătuirea unor licheni fixatori.

Algele albastre asigură fertilitatea solurilor submerse din orezării, unde lipsa îngrășămintelor cu azot nu se observă mulți ani. Pe aceste terenuri umede, ele sînt foarte abundente și pot fixa 15—50 kg la hectar azot (De și Mandal, 1956).

Unii cercetători au afirmat că plantele superioare (porumb, mazăre) pot fixa azot în prezența vitaminei B_{12} (Müller, 1963; Stevenson, 1959). Aceste rezultate sînt însă îndoielnice.

Fixarea azotului este un proces reducător. El necesită deci:

— o substanță reducătoare (care poate fi acidul piruvic, acidul α cetoglutaric sau chiar hidrogenul);

— o sursă de energie: adenozintrifosfatul (ATP);

— un sistem enzimatic corespunzător, care trebuie să cuprindă o nitrogenază și o dehidrogenază. Nitrogenaza este enzima specifică ce catalizează reducerea azotului molecular, precum și a șase clase de compuși organici cu triple legături.

La cianoficee s-au pus în evidență două sisteme enzimatice:

— un sistem donor de hidrogen (S.D.H. sau H.D.S. în l. engleză), care cuprinde dehidrogenaza și enzimele generatoare de adenozintrifosfat (ATP);

— un sistem activator al azotului (SAN, NAS în l. engleză).

Nitrogenaza cuprinde două fracții enzimatice: o molibdofero-proteină (azofermo) și o proteină ce conține numai fier — azofer (Hardy și colab., 1971). Molibdoferoproteina are greutate moleculară de 268—300 mii și o structură tetraedrică, cu atomii de molibden și fier în colțuri (Burns și Hardy, 1972; Stasny și colab., 1974). Există și nitrogenaze cu vanadiu în loc de molibden, dar cu o activitate diferită. (Mc Kenna și colab., 1970; Burns și colab., 1971). Nitrogenaza, și odată cu ea fixarea azotului molecular, este inhibată de azotul combinat (Spitt și Odu, 1974; Bezdicek și colab., 1974). Fenomenul a fost descris matematic de Iswaran (1960).

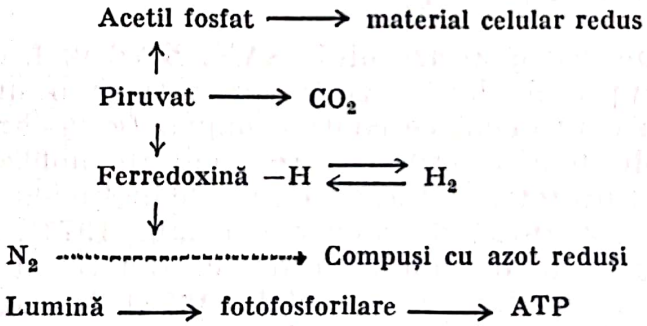
Hidrogenul produs în primul sistem este transferat celui de al doilea sistem, printr-o enzimă specifică, care în cazul fixării anaerobe este ferredoxina. Aceasta se reduce sub acțiunea ATP (simultan cu — trecerea acestuia în ADP, prin pierdere de energie). Ferredoxina redusă, reduce la rîndul său nitrogenaza, care devine astfel capabilă să formeze un complex cu azotul molecular. Acest complex generează amoniac, (în prezența a mai multe molecule de ATP (Dixon, 1974) regenerînd nitrogenaza (bineînțeles ATP cedînd energie se transformă în ADP). Capacitatea de fixare a unei celule microbiene corelează bine cu conținutul său în ATP (Oleinikov și colab., 1971), ceea ce scoate în evidență marea cantitate de energie consumată în fixarea azotului.

Întrucît fixarea azotului se face în toate cazurile prin reducere, al cărei randament scade în prezența oxigenului, este evident că fixarea

aerobă are un randament mai slab, deşi energia este mai bine folosită în aerobioză.

Schema de mai sus nu este întrutotul valabilă pentru fixatorii aerobi care nu posedă ferredoxină. În acest caz, fixarea poate avea loc în mod similar, dar donatorul de hidrogen pentru nitrogenază nu este ferredoxina, ci alte sisteme enzimatice şi neenzimatice (W a n g şi colab., 1971). Teorii mai vechi considerau indispensabilă în fixarea simbiotică a azotului, prezanţa unei proteine cu fier (leghemoglobină). K o c h şi colab., (1967) au arătat însă că nu această proteină, ci fierul (care intră în structura nitrogenazei) este indispensabil fixării. Randamentul mare al fixării simbiotice se datorează aprovizionării masive cu ATP (H a r d y şi H a v e l k a, 1973 ; H a r d y şi colab., 1973). Planta foloseşte în acest scop cca. 50% din fosforul absorbit (E s a m şi colab., 1971).

Toate bacteriile sulfuroase fixează azot. Această constatare nu este surprinzătoare, deoarece cele două procese sînt asigurate de sisteme enzimatice foarte asemănătoare. Dimpotrivă, mult mai surprinzătoare pare constatarea că din masa mare a organismelor fotosintetizante un număr atît de mic de specii s-au adaptat la fixarea azotului. Fixarea azotului la toate microorganismele e legată de producerea hidrogenului, care îl reduce (tot aşa cum reduce şi bioxidul de carbon). La bacteriile sulfuroase producerea de hidrogen prin fotosinteză şi energia fixării sînt puternic corelate (G e s t şi colab., 1962). Dependenţa fixării azotului de lumină şi funcţia ferredoxinei reies din schema :



B e n n e t şi colab. (1964) compară fixarea azotului la bacteria autotrofă *Chromatium* şi la cea heterotrofă *Clostridium* (ambele anaerobe obligate) : la ambele fixarea este ferredoxin-dependentă şi bazată pe reacţia piruvat — fosforoclastică. Deosebirea constă în faptul că bacteriile din genul *Chromatium* pot folosi ca sursă de energie lumina, în timp ce *Clostridium* foloseşte în acest scop energia rezultată din fermentaţii.

Datele experimentale arată că în solurile tinere, neevoluate, fixarea biologică a azotului este activă. În solurile aflate în echilibru (acesta este în general cazul solurilor agricole), fixarea este foarte slabă şi ea nu face decît să completeze în mică măsură diferitele pierderi de azot.

Schema circulaţiei azotului. Exigenţele diferite ale organismelor în raport cu azotul determină, aşadar, circulaţia acestui element în natură (fig. 5).

În schema din figura 6 se redau, după Z a r n e a (1970), multiplele legături ce se stabilesc între circulaţia carbonului şi azotului în natură.

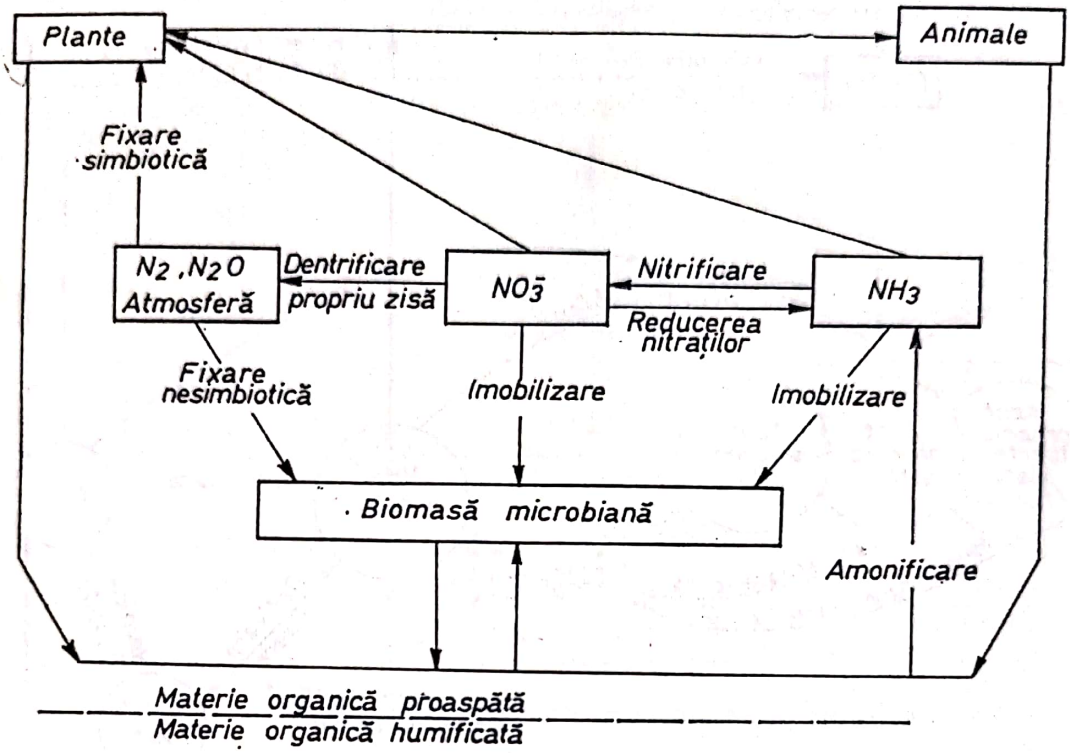


Fig. 5. Circuitul azotului în natură (după Dommergues și Mangenot, 1970)

După cum s-a arătat, azotul parcurge în sfera circuitului său general în natură, un ciclu de mineralizare-imobilizare în sol, ciclul de care depinde în mare măsură aprovizionarea plantelor cu acest element (fig. 7).

Din această schemă rezultă că o parte a azotului organic din sol este foarte stabil, deși compușii cu azot sînt în genere rapid metabolizați. Stabilitatea azotului organic în sol se datorește fie fixării pe argile, fie

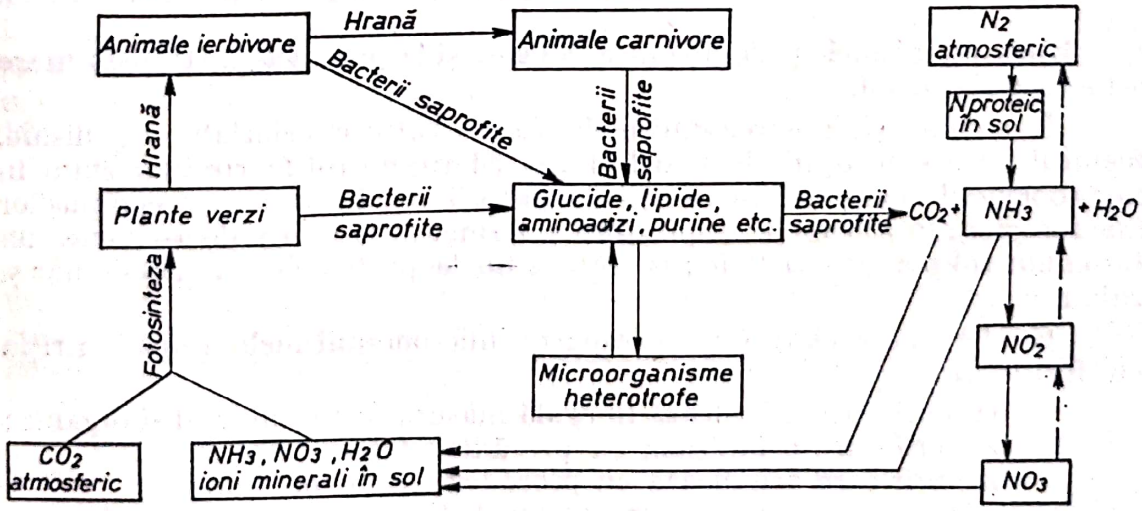


Fig. 6. Relațiile dintre circulația carbonului și azotului în natură (după Zarnea, 1970)

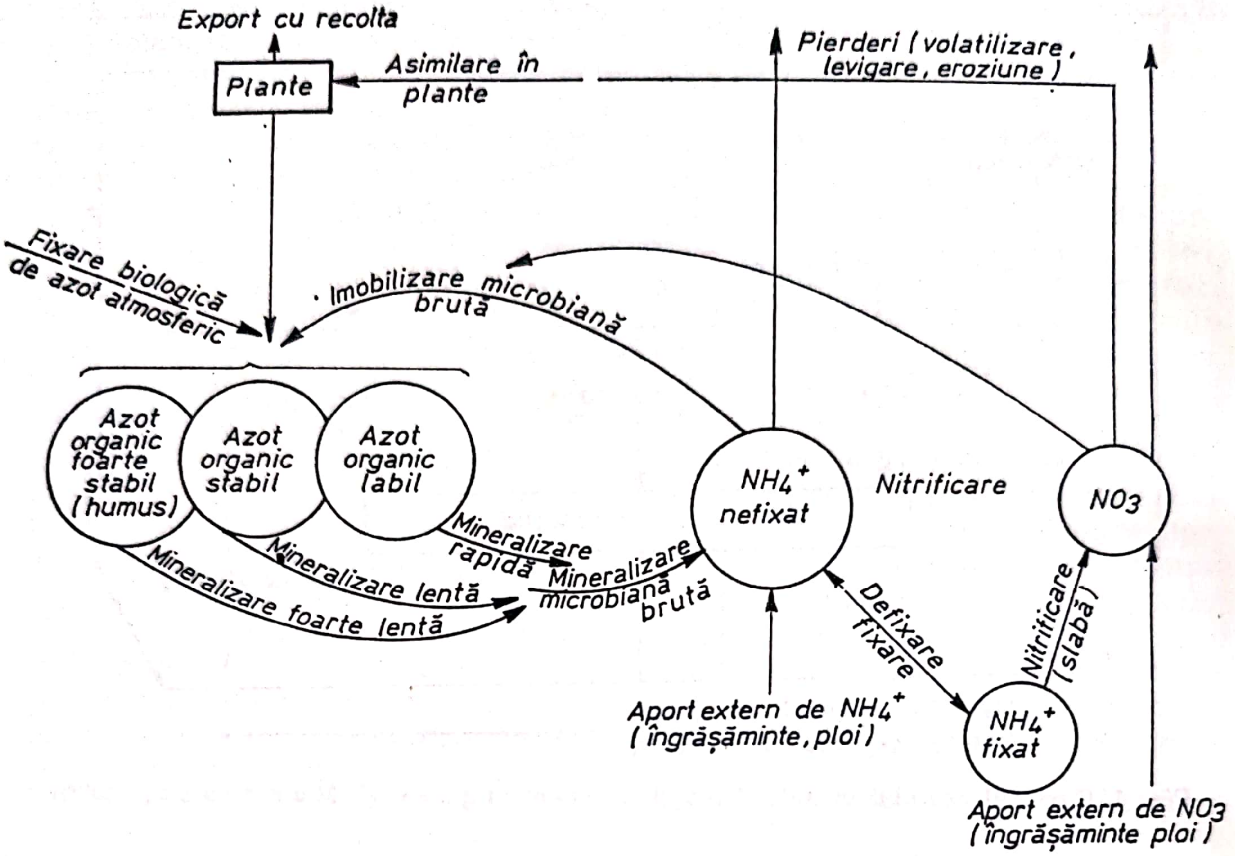


Fig.7. Ciclul extern şi intern al azotului (după Dommergues şi Mangenot, 1970)

complexării cu alte substanţe : lignine (Waksman şi Yer, 1932), fenoli (Handley, 1954) sau humus (Simonart şi Mayaudon, 1957).

2.2.2. Circuitul biologic al fosforului în sol

Microorganismele participă de asemenea şi la procesele de transformare a fosforului din sol.

În compoziţia microorganismelor ca şi a tuturor celorlalte organisme, fosforul intră sub formă de acid fosforic. El are un rol foarte important în metabolismul energetic (în reacţii de fosforilare, de formare a compuşilor macroergici), în procesele respiratorii şi fermentative. Are de asemenea un însemnat rol plastic (participă la sinteza nucleoproteidelor, a grăsimilor şi zaharurilor).

Golebiovska (1956) împarte microorganismele după nutriţia cu fosfor în :

— bacterii care asimilează în egală măsură fosfor mineral şi organic ;
— bacterii care asimilează cu precădere fosfor mineral ;
— bacterii care asimilează cu precădere fosfor organic ;
— bacterii care solubilizează fosforul din glicerofosfat ;
— bacterii care solubilizează fosfatul tricalcic.

Scanned with OKEN Scanner

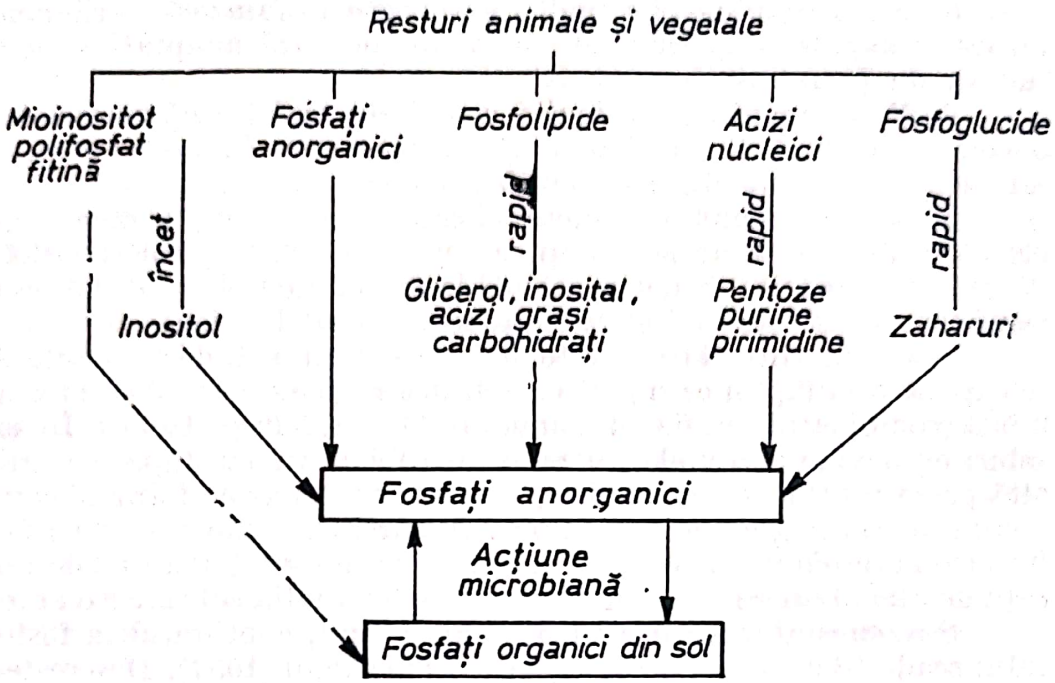


Fig.8. Transformările fosforului în sol (după C o s g r o v e , 1967)

Repartiția acestor grupe de bacterii este caracteristică pentru fiecare sol.

Consecința utilizării diferențiate a fosfatului de către diferitele microorganisme este participarea acestora la ansamblul proceselor de solubilizare, mineralizare și fixare a acidului fosforic în sol (fig. 8).

Fosforul se găsește în sol sub formă organică în proporții ce variază de la 4 % (în podzoluri) la 90 % (în solurile montane). Fosforul ajunge în sol în urma descompunerii resturilor vegetale și animalelor care îl populează. Dintre combinațiile fosforului s-au identificat în sol : inozitolfosfați, fosfolipidele, acizii nucleici, nucleotizii și glucidele fosfatice. Natura chimică a celei mai mari părți din fosforul organic al solului este încă obscură, dar există indici că în principal este de origine microbiană (C o s g r o v e , 1967).

Majoritatea microorganismelor posedă un echipament enzimatic ce le face capabile să mineralizeze compușii organici cu fosfor. De multă vreme se cunoaște activitatea fosfatazică a ciupercii *Aspergillus niger*. Mai mult de 50 % din microorganismele izolate din sol și rizosferă posedă activitate fitazică (G r e a v e s și colab. 1963). K o b u s (1961) consideră că bacteriile posedă atît fitază, cît și nuclează și în consecință pot mineraliza atît glicerofosfatul, cît și lecitina. În funcție de echipamentul enzimatic, M a z k i n și K u z n e ț o v a (1964) împart mircoorganismele din sol în :

a. Microorganisme cu slabă activitate fosfatazică (micobacterii, micrococi, *Bacillus cereus* var. *mycoides*, *Bacteroides glutinosus*).

b. Microorganisme cu înaltă activitate fosfatazică (ord. *Pseudomonadales*, *Bacillus adhaerens*).

c. Microorganisme cu înaltă activitate fosfatazică şi ribonucleazică (*Bacillus megaterium*), care posedă o ribonuclează adaptativă ce poate fi indusă de prezenţa glucozei.

d. Microorganisme cu înaltă activitate fosfatazică ribonucleazică şi dezoxiribonucleazică (*Bacillus subtilis, B. cereus, B. mesentericus*). Aceste microorganisme posedă o ribonuclează constitutivă.

Nucleotidele sînt uşor metabolizate în sol de către microorganisme, care le utilizează în acelaşi timp ca sursă de carbon, azot şi fosfor. Acizii dezoxiribonucleici sînt mai rezistenţi la atacul microbian decît cei ribonucleici, iar fitina este mai greu defosforiată decît lecitina.

Rezistenţa fitinei în sol este mai mare decît ar fi de aşteptat. Aceasta se explică prin faptul că o parte din fitină se găseşte în sol sub formă insolubilă (combinaţiile cu fier şi aluminiu) de regulă în podzoluri. În astfel de soluri ea devine accesibilă atacului microbian numai după calcarizare. O altă parte a fitinei este combinată cu zaharuri şi azot, formînd combinaţii complexe foarte greu de descompus. În sfîrşit, complexarea cu substanţele humice puternic polimerizate conferă fitinei un grad avansat de rezistenţă faţă de atacul microbian sau de enzimele libere din sol (P e r e i r a , 1970).

S-a constatat că după luarea în cultură, conţinutul în fosfor al solului scade (S c h o l l e n b e r g e r , 1920 ; Paul, 1954). Descreşterea este rapidă imediat după desţelenire, după care treptat se realizează un echilibru. Acest fenomen reiese cu deosebită claritate din datele obţinute de H a n d r a şi colaboratorii (1971) şi T r i b o i şi H e r a (1973) pe solurile cernoziomice (fig. 9).

Descreşterea conţinutului solului în fosfor organic corelează foarte strîns cu pH-ul, conţinutul în carbon şi azot.

Adaosul de material organic în sol duce la acumulări de fosfor numai în cazul în care în compoziţia sa chimică fosforul se găseşte în cantităţi mai mari de 0,2 %, deoarece microorganismele folosesc 0,16 — 0,36 mg fosfor pentru 100 mg glucoză şi 0,35 — 0,45 mg pentru 100 mg celuloză. În mod natural însă, materia organică conţine suficient fosfor pentru a fi mineralizată.

R o t i n i (1932; 1951 ; 1953) a demonstrat că microorganismele din sol eliberează meta şi pirofosfatază cu ajutorul cărora transformă metafosfaţii şi respectiv pirofosfaţii în ortofosfaţi. P i c c i (1956) a evidenţiat la ciupercile din genurile *Penicillium* şi *Aspergillus* însuşirea de a solubiliza fosfaţii. Tot pe cale microbiană are loc reducerea fosfaţilor în fosfiţi, hipofosfiţi, fosfuri, proces întîlnit în sol numai în cazuri excepţionale de anaerobioză.

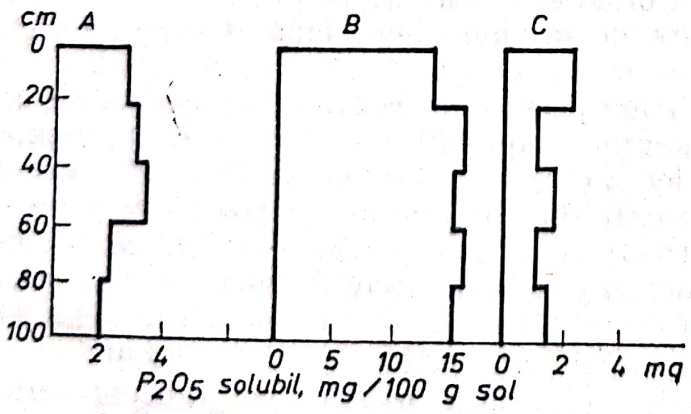


Fig. 9. Conţinutul în fosfor solubil al solului după desţelenire (după H a n d r a şi colab., 1971)
A = sol înţelenit; B = sol desţelenit de 5 ani; C = sol cultivat de 50 de ani.

O altă cale prin care microorganismele solubilizează fosfaţii greu solubili este aceea a scăderii pH-ului me-

diului înconjurător, sau acționînd asupra sărurilor de calciu, fier, aluminiu și magneziu (Sieling și Struther, 1949). O activitate deosebită o prezintă hidroxiacizii, precum și acizii di și tricarboxilici (Johnston, 1956; 1959). S-a demonstrat (Steckel și Sieling, 1956) că încorporarea în sol a 40—480 kg/ha acid oxalic sporește foarte mult absorbția fosforului în plantă. Între solubilizarea fosfaților și producerea de acizi există o foarte bună corelație (Rose, 1957), Inocularea solului cu o tulpină microbiană producătoare de acizi sporește cantitatea de fosfor extractabil (Sundara Rao și Sinha, 1963). Se știe că în orezării se produc cantități mai mari de acizi organici. Acest fenomen mărește accesibilitatea fosforului pentru orez (Shapiro și Arminger, 1958).

Nu toate microorganismele care produc acizi solubilizează totuși fosfații (Louw și Webley, 1959). Cercetări mai recente au arătat că solubilizarea fosfaților poate fi realizată numai de către microorganismele care produc acid 2-cetogluconic (Duff și colab, 1963), care apar în număr mare în solurile bogate în humus.

Swaby și Sperber (1958) sînt de părere că activitatea microbiană de solubilizare a fosfaților este mai intensă în următoarele condiții:

— pe nisipuri cultivate cu plante potrivite (lupinul, seradela);
— pe pășuni vechi;
— pe soluri bogate în humus și periodic submerse.

2.2.3. Circuitul biologic al sulfului în sol

Sulful este supus în natură unor transformări mai complicate chiar decît ale carbonului și azotului. Microorganismele joacă în aceste transformări un rol primordial.

Rezerva de sulf a solului variază între 0,04 și 0,2 %, din care 80—90 % sub formă organică. Numai în regiunile deșertice se acumulează în proporție mai mare săruri minerale ale sulfului.

În sol ajung numeroase combinații organice ale sulfului, odată cu resturile vegetale și animale. Ele sînt rapid metabolizate. Numai un număr mic de substanțe organice cu sulf din sol au fost identificate. Shorey (1912) a găsit tritiobenzaldehidă pe care a interpretat-o drept un produs de condensare al benzaldehidei (provenită din lignine) cu hidrogenul sulfurat. Putnam și Schmidt (1959) au pus în evidență cistină, în proporții de 16 părți la miliard în extractul etanolic al solului. Paul și Schmidt (1961) au găsit sulfoxid de metionină, metionină și cistină în solul incubat cu glucoză și azotat de potasiu. Se admite, în general, că metionina și cistina sînt formele principale sub care se găsește sulful în sol, dar acestea se găsesc sub formă combinată din care pot fi eliberate numai prin hidroliză acidă.

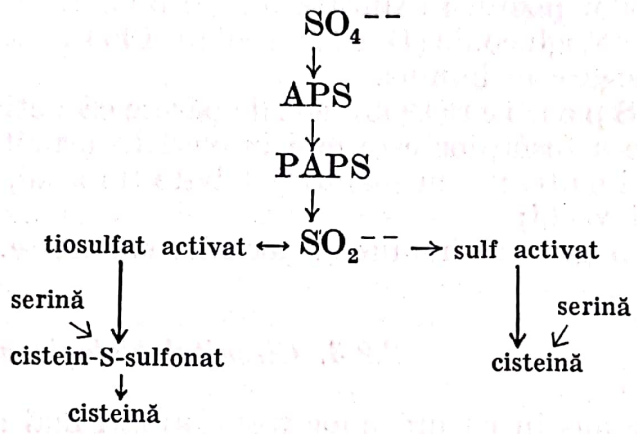
Metionina din humus poate proveni, în parte, direct din materialul vegetal. Cea mai mare parte a metioninei și întreaga cantitate a cistinei au însă origine microbiană.

În biosinteza acestor compuși în sol, un rol central îl joacă cisteina. Aceasta este un aminoacid foarte important în natură (se găsește în proteine, glutation, coenzima A, penicilină).

Scanned with OKEN Scanner

Cowie şi colab. (1950; 1951), Roberts şi colab. (1955), lucrînd cu *Escherichia coli* precizează că sulfatul este activat de ATP la adenozinfosfosulfat (APS), apoi inclus în molecule mari, organic, astfel că sulful nu mai apare sub formă de ioni liberi (Clowes 1958); Ragland şi Liverman, 1958) şi trece în fosfoadenozinfosfosulfat (PAPS).

După Abelson şi Vogel (1955), Holz şi colab. (1959), pentru a forma cisteina, S^{--} ar reacţiona cu serina în prezenţa unei enzime specifice serinsulfhidraza. Această enzimă a fost găsită la bacterii, ciuperci, plante verzi. Încă în 1949, Hockenhull presupunea că tiosulfatul reacţionează cu serina formînd cistein-S-sulfonat. Nakamura şi Sato (1960) au demonstrat această ipoteză, izolînd chiar produsul din mediul de cultură al ciupercii *Aspergillus nidulans*. Pe baza acestor cercetări s-a elaborat o schemă completă a sintezei cisteinei în sol:



Pornind de la cisteină, în sol se sintetizează metionina. Tes şi colab. (1948), Cohen şi Hirsh (1954) au arătat că sinteza metioninei porneşte de la acid aspartic, trecînd prin homoserină, care prin condensare cu cisteină produce cistationină şi (prin scindarea acesteia) homocisteină. Autorii au folosit în lămurirea acestei probleme culturi de *Neurospora crassa*, *Bacillus subtilis* şi *Escherichia coli*.

Nu se cunoaşte mecanismul prin care homocisteina trece în metionină, dar se ştie că procesul necesită vitamina B_{12} (Davis şi Mingiol, 1950; Woods, 1963).

Descompunerea compuşilor organici cu sulf din sol depinde de raportul care există între cantitatea de sulf şi cea de material energetic. Schematic se poate reda astfel:

— la raportul C : S < 200, se acumulează sulf mineral;

— la raportul C : S între 200 şi 400; exista un echilibru între procesele de mineralizare şi imobilizare;

— la raportul C : S > 400 sulful mineral este imobilizat în sol.

Nelson (1964) a găsit o corelaţie foarte strînsă între cantitatea sulfului din sol şi intensitatea mineralizării sale.

Mineralizarea sulfului începe de îndată ce temperatura solului atinge 10°C şi creşte continuu pînă la 30°C.

În sol, mineralizarea sulfului duce totdeauna la formarea sulfaţilor, în timp ce în culturi pure de microorganisme se formează diferiţi compuşi organici şi anorganici cu sulf.

Studierea descompunerii cisteinei în sol prin metoda perfuziei a lui Lees și Quastel (1946) a dus la identificarea următorilor compuși intermediari: cisteina, disulfoxidul de cisteină, acidul cisteic (Kearney și Singer, 1952; Freney, 1960). Se pare că oxidarea cisteinei în sol este un proces neenzimatic, fiind catalizat de ioni de fier, cupru și mangan.

Cisteina este în continuare oxidată, pînă la acid piruvic și bioxid de sulf, așa cum au demonstrat Kearney și Singer, lucrînd pe omogenate ale bacteriei *Proteus vulgaris*.

În descompunerea cistinei un rol important îl joacă enzima denumită cistationază.

Formarea compușilor organici cu sulf pornind de la materia organică a solului, sau de la resturi organice, pare a fi de mare importanță pentru viața acestuia. Papavizas și Lewis (1970) au demonstrat că încorporarea de resturi ale unor plante crucifere în sol duce la eliberarea de compuși volatili sulfurați. Procesul are o importanță practică foarte mare deoarece în prezent reprezintă singura metodă economică în S.U.A. de combatere a infecțiilor cu *Aphanomyces* la sfeclă, fasole și mazăre.

În condiții anaerobe, hidrogenul sulfurat ce se formează în sol prin mineralizarea unor compuși organici cu sulf rămîne ca atare. În condiții normale de aerație, el trece în compuși, mai mult sau mai puțin oxidați (mercaptani, sulf elementar, sulfiți, sulfați). Aceste transformări sînt similare cu cele ale azotului, la care prin mineralizare se formează amoniac oxidat, apoi la nitriți și nitrați.

Transformările sulfului mineral în sol au fost examinate cu ocazia prezentării metabolismului autotrof al microorganismelor.

Microorganismele participă la oxidarea hidrogenului sulfurat la sulf elementar și apoi la sulfați.

Există bacterii care oxidează și tiocianații din sol, compuși foarte toxici pentru plantele superioare (*Bacterium thiocyanoxidans*). Acest proces se întîlnește la *Thiobacillus denitrificans*, care folosește pentru oxidarea tiocianaților oxigenul rezultat din reducerea nitraților. Oxidarea tiocianaților este un proces extrem de interesant din punct de vedere teoretic, dat fiind toxicitatea ionilor cian pentru toate organismele cunoscute. Procesul este însă incomplet elucidat pînă în prezent (Ware și Painter, 1955).

Oxidarea sulfului are loc nu numai sub influența florei specifice (care are rol decisiv în solurile cu umiditate mare), ci și sub influența unei microflore heterotrofe nespecifice: bacterii, actinomicete, ciuperci (Guittoneau, 1927; Gleen și Quastel, 1953).

Oxidarea sulfului este inhibată în solurile bogate în humus și în cele acide. În acest din urmă caz, calcarizarea are efect favorabil.

Eliberarea sulfului în sol suferă variații sezoniere datorită atît variației microflorei, cît și consumării diferențiate de către plante.

Microorganismele din sol participă și la reducerea sulfului pînă la hidrogen sulfurat. Acest fenomen este extrem de nociv pentru plante, deoarece blochează fierul sub formă de sulfuri (Balogh și colab., 1954). Hidrogenul sulfurat este el însuși toxic, deoarece reduce sistemul citrocromic al plantelor.

Scanned with OKEN Scanner

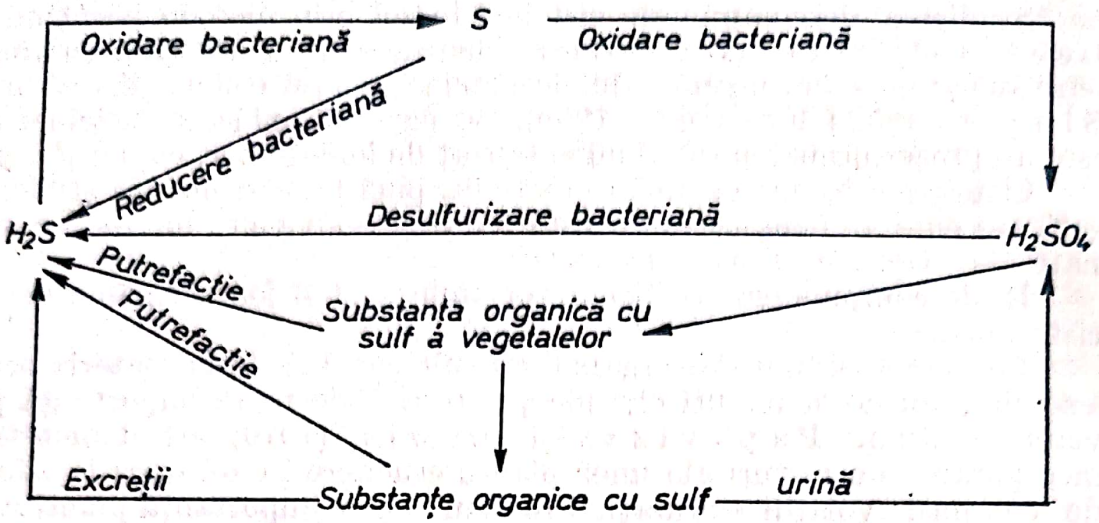


Fig. 10. Circulația sulfului în natură (după F l o r k i n , 1943)

În sol nu se poate produce SH_2 pornind de la compuși organici cu sulf (M o r g h a n și P a t r i c k, 1974).

În condiții de aerație corespunzătoare, în sol predomină procesele oxidative. Oxidarea hidrogenului sulfurat duce la formarea unor depozite de sulf elementar, care sustrag acest element circuitului biologic. Aceste pierderi sînt însă larg compensate de aportul izvoarelor sulfuroase.

Sulful, ca și azotul, scade procentual în sol prin export cu recolta, levigare și eroziune.

La plantele superioare există o corelație între consumul de azot și cel de sulf, deoarece ambele elemente participă la sinteza proteinelor. Plantele ținute în regim carențial de sulf, au tendința de a acumula nitrați (nu pot sintetiza aminoacizii cu sulf , indispensabili sintezei proteinelor). De aceea, sulful poate în unele condiții limita recolta îndeosebi la leguminoase. Sulful poate limita în acest caz și intensitatea fixării simbiotice a azotului. De aceea la leguminoase, îngrășarea cu sulf poate spori substanțial recolta. În mod rezumativ, circulația sulfului în sol poate fi schematizată ca în figura 10.

2.2.4. Circuitul biologic al fierului în sol

Fierul se găsește în sol atît în forme organice, cît și minerale (săruri de fier bi și trivalente).

Mineralizarea compușilor organici cu fier este realizată de către o microfloră nespecifică, prin descompunerea părților organice ale moleculelor de proveniență animală sau vegetală. Această descompunere poate avea loc pe cale aerobă (formîndu-se hidrat feric) sau anaerob, pînă la compuși feroși. În cazul descompunerii anaerobe se formează în paralel substanțe reduse cu fier și sulf, așa încît de foarte multe ori produsul final este sulfura de fier, oxidată în condiții favorabile de către *Thiobacillus ferrooxidans* (I v a r s o n, 1973). Sulfatul feric format solubilizează cuprul,

molibdenul, zincul, plumbul, arseniul și uraniul din sol (Bugner și Anderson, 1957; Duncan și Bruynstein, 1973).

Forma oxidată sau redusă sub care fierul se găsește în sol are o foarte mare importanță din punct de vedere al accesibilității sale pentru plante.

Oxidarea compușilor reduși ai fierului poate avea loc pe cale chimică sau biochimică.

Microorganismele din sol produc fier trivalent nu numai prin descompunerea aerobă a resturilor organice. Numeroase bacterii autotrofe oxidează probabil fierul procurîndu-și astfel energia necesară.

Oxidarea fierului are loc și prin cedare de electroni în cursul fotosintezei (la alge) sau a producerii biologice a amoniacului (Halvorson 1931).

Harder (1919) distinge trei grupe de microorganisme care participă la oxidarea fierului:

— Microorganisme autotrofe, care oxidează bicarbonatul feros la hidroxid feric, folosind energia rezultată la reducerea bioxidului de carbon eliberat de bicarbonat.

— Microorganisme facultativ autotrofe, care oxidează diferite forme de fier mineral sau organic.

— Microorganisme heterotrofe, care descompun substanțele organice cu fier, eliberînd fier trivalent.

Importanța oxidării biologice a fierului este mare pentru solurile acide, în care oxidarea chimică este foarte dificilă. Aciditatea solului trebuie să fie însă moderată, pentru a permite creșterea microorganismelor, iar aerația, satisfăcătoare. Oxidarea biologică a fierului în solurile acide se intensifică puternic după calcarizare.

În solurile cu pH neutru, oxidarea poate avea loc exclusiv pe cale chimică.

După ce Kützig (1833) a descris prima bacterie feruginoasă, au fost descoperite numeroase forme aparținînd unei microflore specifice. Astăzi acestea sînt încadrate în 4 familii:

— Familia *Chlamidobacteriaceae* bacterii ce produc o teacă filamentoasă.

— Familia *Crenotrichaceae*, atașate de substrat prin partea bazală, diferențiată de restul coloniei.

— Familia *Caulobacteriaceae* cuprinde bacterii pedunculate. Din această familie, genul *Galionella* pare a prezenta o importanță deosebită pentru podzolurile reci. Această bacterie este adaptată pentru o viață activă la temperaturi relativ scăzute (cu un optimum termic la 10—12°C).

— Familia *Siderocapsaceae* cuprinde bacterii unicelulare tipice.

Rolul acestor microorganisme în ape este precizat de o manieră incontestabilă, dar importanța lor pentru viața solului este încă nelămurită. În sol intervin numeroși factori care influențează oxidarea fierului (natura și gradul de solubilitate al compușilor feroși, raportul aer : apă, potențialul rH, pH, acizii humici, mineralele argiloase).

Reducerea fierului este de asemenea un fenomen biologic. Procesul se desfășoară în condiții de anaerobioză și are implicații în procesele de podzolire și gleizare. În astfel de soluri fierul redus se combină cu acizii fulvici și alți compuși organici (Diakonova și Bulceva, 1974) O primă consecință a prezenței acestor compuși o reprezintă deprecierea

stării fizice a solului. Bloomfield (1967) a arătat că în procesele de reducere a fierului participă o microfloră heterotrofă nespecifică, cu activitate reducătoare intensă. În sol au loc procese de fermentaţie butirică sau aceto-butilică, care furnizează microorganismelor energia necesară reducerii.

Deşi mai rar întîlnită, reducerea pur chimică a fierului din sol are o importanţă la fel de mare. Existenţa acestui proces este demonstrată de faptul că şi în prezenţa unor inhibitori enzimatici (azida de sodiu, sublimat), poate avea loc reducerea fierului.

Deoarece atît oxidarea cît şi reducerea fierului sînt fenomene reversibile, în sol există permanent un anumit echilibru între fierul bi şi trivalent. Gleen (1950) a arătat că introducerea de fier redus în sol duce la creşterea conţinutului de fier oxidat.

2.2.5. Circuitul biologic al manganului în sol

Circulaţia manganului este în legătură strînsă cu cea a fierului şi sulfului.

În sol, manganul se găseşte sub formă bi, tri şi tetravalentă, dar numai în formă tetravalentă este accesibil plantelor.

Manganul este un element indispensabil plantelor, fiind un constituent al enzimelor respiratorii şi a celor implicate în sinteza proteică (argininfosforilaza). El participă în transferuri, de obicei ale grupărilor fosfatice. Prin formarea de chelaţi, condiţionează producerea complexelor enzimă-substrat.

Circulaţia manganului în sol este influenţată de proprietăţile fizice, chimice şi biologice ale solului (Fujimoto şi Sherman, 1948; de Groot, 1956). Reducerea manganului are loc cu precădere la pH acid, iar oxidarea, în condiţii de pH alcalin. De aceea, carenţe de mangan se observă cu precădere pe solurile alcaline, calcaroase, în timp ce fenomene de toxicitate datorită excesului de mangan bivalent au loc la pH mai mic ca 5.

Reducerea manganului din sol poate avea loc pe cale pur chimică datorită unor chinone, sulfuri sau datorită cisteinei, dar este predominant microbiologică şi are loc numai după consumarea din sol a oxigenului şi nitraţilor (Takoi, 1961).

2.2.6. Circuitul biologic al potasiului în sol

Nu este nevoie să precizăm aici importanţa potasiului în metabolismul tuturor plantelor, importanţa sa în reglarea presiunii osmotice, în sinteza proteică şi fotosinteză. Ne mărginim a arăta că în condiţiile utilizării unor cantităţi mari de îngrăşăminte cu azot, nevoia de potasiu a plantelor creşte. În sol, numai 1—5 % din potasiu se găseşte sub forme accesibile plantelor, restul fiind fixat în reţeaua cristalină a unor minerale. Echilibrul dintre potasiul accesibil şi cel fixat, depinde de mai mulţi factori (concentraţiile relative ale celor două forme de potasiu, tipul de sol, planta cultivată etc.).

Scanned with OKEN Scanner

Microorganismele participă la transformările potasiului în sol, mineralizînd resturile organice. În acest fel se eliberează potasiul sub formă de săruri ușor asimilabile. S-a demonstrat capacitatea unor microorganisme (în special ciuperci) de a elibera potasiul din rețeaua cristalină a ortoclazului, olivinei, muscovitului, biotitului și vermiculitului (Eno și Reuszer, 1950; Müller și Foster, 1964). Posibilitatea eliberării potasiului din rețeaua cristalină a acestor minerale se leagă de capacitatea microorganismelor de a produce acid 2-cetogluconic și acid citric (Niklas și Toursel, 1940; Heinz și Mann, 1949). Intensitatea procesului depinde de gradul de mărunțire a rocii, ceea ce demonstrează importanța măririi suprafeței de contact dintre rocă și secrețiile microbiene.

2.2.7. Circuitul biologic al calciului și magneziului în sol

Circulația biologică a calciului este puțin cunoscută, deși este un element important atît în nutriția plantelor cît și în calitatea de factor de mediu.

Se știe totuși că microorganismele participă la mineralizarea, solubilizarea și precipitarea calciului. Cercetările moderne nu au confirmat însă existența unei microflore specifice pentru metabolizarea calciului.

Conținutul solului în calciu influențează puternic numărul și activitatea microorganismelor din sol (fig. 11).

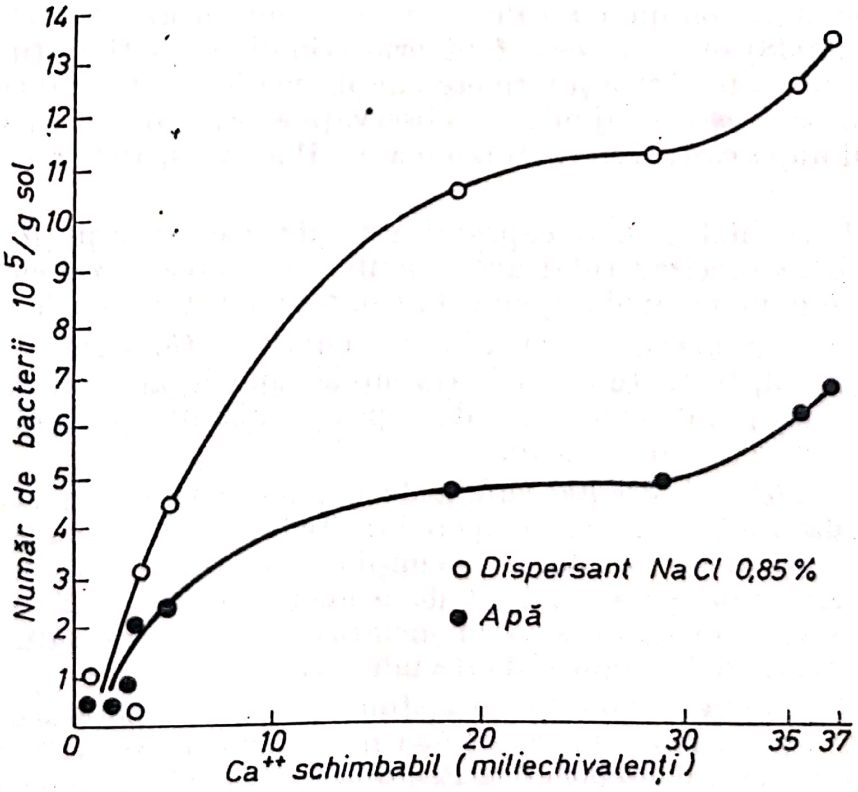


Fig. 11. Numărul de bacterii din sol în funcție de conținutul acestuia în calciu asimilabil (după Chaterjee și Dalal, 1968)

Calcarizarea influenţează pozitiv activitatea microbiană a solului (Hanna şi Purvis, 1941; Galstian, 1961).

Legat de metabolismul calciului în cele mai diverse organisme, metabolismul magneziului are o importanţă deosebită pentru procesele de fotosinteză şi fosforilare.

Magneziul accesibil apare în sol prin mineralizarea biologică a materiei organice. Nu s-a putut pune în evidenţă o microfloră specializată în transformarea magneziului. Ca şi calciul, acest element activează în general procesele microbiene, îndeosebi nitrificarea şi fixarea azotului.

2.2.8. Microelementele şi microflora solului

Microorganismele din sol reclamă în mod obligatoriu prezenţa *molibdenului*, implicat atît în fixarea azotului atmosferic, cît şi în reducerea nitraţilor.

În ceea ce priveşte rolul microorganismelor în circulaţia *zincului*, nu dispunem pînă în prezent de nici un fel de date. Se ştie totuşi că acest element este necesar atît plantelor cît şi microorganismelor şi că în cazul solurilor insuficient aprovizionate, microorganismele concurează plantele în asimilarea lui.

Borul se găseşte în sol mai ales sub formă organică, fiind mineralizat treptat de către microorganisme. Acest element, indispensabil plantelor cultivate, are o acţiune stimulatorie asupra microflorei.

Amendarea solului cu calcar reduce conţinutul de bor asimilabil. Naftel (1938) explică acest fapt prin stimularea activităţii microorganismelor după calcarizare şi reţinerea în plasma lor a unei cantităţi de bor. Această ipoteză este sprijinită de observaţiile privind stimularea respiraţiei solului după calcarizare. (Hanna şi Purvis, 1941; Galstian, 1961).

Circulaţia biologică a *cuprului* este de asemenea puţin cunoscută, deşi este bine precizat rolul acestuia în activitatea enzimelor oxidante, printre care polifenoloxidaza, cu rol în sinteza substanţelor humice.

Se cunosc numeroase cazuri în care cuprul acţionează ca un factor limitativ în sol, în toate cazurile carenţele fiind legate, nu de cantitatea totală de cupru, ci de cantitatea de cupru asimilabil, precum şi de interacţiunea cu alte microelemente.

Seleniul, telurul, arsenul suferă de asemenea transformări de natură biologică datorită mai ales ciupercilor (reduceri, oxidări, metilări). De mare importanţă este oxidarea arseniţilor care sînt foarte toxici. Nu se ştie dacă acest proces este realizat de o microfloră specifică, dar el este de origine biologică deoarece s-a demonstrat că în prezenţa sulfanilamidei şi a unor săruri de sodiu, procesul este inhibat.

Clorul exercită şi el o influenţă (stimulatoare sau inhibitoare în funcţie de concentraţie) asupra unor procese microbiene în sol (Gorobciuc, 1970). Cloraţii sînt deosebit de toxici, datorită reducerii biologice la hipoclorit. Acest fenomen contestat iniţial, a fost demonstrat de Itazoki şi colab. (1963).

Scanned with OKEN Scanner

2.3. DESCOMPUNEREA ȘI RECALCITRANȚA MOLECULARĂ

Microorganismele au cum am văzut, o remarcabilă capacitate de adaptare la metabolizarea diferiților compuși organici, datorită unor modificări genotipice sau unor reorientări enzimatice. Apariția de noi posibilități metabolice are loc deci fie prin mutații și selecție naturală, fie prin adaptări.

Sintetizînd cunoștințele privitoare la marea capacitate de adaptare a microorganismelor, G a l e afirma în 1952 : „Probabil că nu e neștiințific să spunem că există microorganisme capabile în condiții favorabile să descompună orice substanță oxidabilă", iar 10 ani mai tîrziu, H o f f m a n n (1962) afirmă și el : „Orice compus organic introdus în sol, determină apariția unor enzime capabile de a-l descompune". A l e x a n d e r (1965) a denumit această idee „principiul infailibilității microbiene", dar a considerat-o „o mare iluzie a microbiologiei".

Într-adevăr și în deceniul al șaselea al secolului nostru (și chiar mai devreme) se cunoșteau unele corpuri rezistente la degradarea microbiană, în primul rînd organele de rezistență ale unor vegetale : endospori, chiști, scleroți, clamidospori, semințe, polenul, care-și păstrează secole întregi viabilitatea. S-a arătat că fructele de *Nelumbo* , vechi de cîteva mii de ani, au avut o germinație de 100 %. Humusul, părul mamiferelor sînt foarte rezistente la degradarea microbiană. Celuloza a fost găsită în straturi fosilifere datînd din miocen și pliocen, ca și pectinele, hemicelulozele, ligninele (V a l e n t y n e, 1963). A b e l s o n (1963) a găsit aminoacizi legați, în depozite de antracit datînd de 25 de milioane de ani și în sedimente marine, avînd cam aceeași vîrstă. O serie de aminoacizi legați și chitina au fost găsiți în depozite fosilifere din cele mai vechi (C a m b r i a n). În rășini, acidul succinic, porfirinele, chitina au fost datate la cîteva miloane de ani. Foarte rezistente sînt substanțele organice din petrol și cărbuni. Miceliile fungice sînt descompuse în general foarte ușor. Totuși unele micelii, ce conțin melanine, rezistă foarte mult. Printre compușii cu azot rezistenți la descompunere, se enumeră : acidul etilendiaminotetraacetic, trietanolamina, melanina ,morfolina, acetilmorfolina, diaminopiridina, dietilamina (H e u k e l e k i a n și R a n d , 1955 ; L u d z a k și E t t i n g e r, 1960).

Rezistența la descompunere a unor substanțe creează probleme ecologice complexe. Din acest motiv, spre exemplu, productivitatea primară a lacului Victoria (Africa) este total compromisă, și odată cu ea, fondul piscicol care constituia în trecut baza nutriției triburilor indigene. S-a demonstrat că pierederea productivității acestui lac este o consecință a trecerii sulfului sub forme organice nemineralizabile de către microorganisme (B e a u c h a m p, 1958). La produsele naturale rezistente la degradare, se adaugă cantități tot mai mari de substanțe organice sintetizate de om, foarte greu descompuse de către microorganisme cum sînt : mase plastice, detergenți, insecticide și erbicide. Pentru a ilustra amploarea problemei, se semnalează că numai în 1962, în S.U.A. s-au vîndut 1,2—2,0 miliarde kilograme de detergenți nebiodegradabili. Aceste substanțe produse de către om creează o dublă problemă :

— protejarea lor la descompunere în cursul folosirii ;

— descompunerea lor rapidă după folosire. În caz contrar ele pătrund în mediile naturale şi devin cauza acelui extrem de îngrijorător fenomen pe care-l numim poluare.

Rezistenţa în mediu a unor compuşi organici se poate datora mai multor cauze :

— factorilor de mediu nefavorabili descompunerii ;
— microflorei prea puţin variate şi neadaptate enzimatic ;
— constituţiei chimice a produsului.

Dintre factorii de mediu care favorizează rezistenţa la atacul microbian, anaerobioza joacă un rol foarte important datorită în special următoarelor condiţii :

— acumularea de metaboliţi toxici (hidrogen sulfurat, substanţe aromatice, etc.) incompatibili cu activitatea microorganismelor ce descompun substratul ;
— lipsa unor acceptori convenabili de electroni.

Cazul hidrocarburilor este tipic din acest punct de vedere : unele pot fi oxidate de către *Desulfovibrio* numai în prezenţa oxigenului nu şi a nitraţilor (pe care bacteria îi reduce). De aceea nu pot fi utilizate în anaerobioză. Astfel, *Pseudomonas stutzeri* poate folosi în respiraţie oxigenul rezultat din denitrificare, dar pentru a oxida hidrocarbura cu 12 atomi de carbon, are nevoie neapărat de oxigen liber.

Adsorbţia pe diferite substanţe măreşte rezistenţa la descompunere. Adsorbţia pe lignine are o acţiune de protecţie mai importantă decît cea pe argile (Mc Laren, 1954 ; Esterman şi colab., 1959). Dispunerea moleculelor adsorbite pe adsorbant este de cea mài mare importanţă : adsorbţia gelatinei pe argile în strat monomolecular o protejează în întregime de descompunere, în timp ce adsorbţia în strat mai gros nu are o influenţa sensibilă asupra descompunerii (Pinck şi colab., 1954).

Încrustarea unei substanţe cu o alta îi măreşte de asemenea rezistenţa la atacul microbian. În acest sens s-a prezentat deja cazul încrustării celulozei cu diferite substanţe, îndeosebi cu lignine. Handley (1961) presupune (pe baza dovezilor arheologice), că încrustarea cu taninuri este factorul major conservant al produselor naturale.

Mobilitatea substanţei ce urmează a fi descompusă este un alt factor cu rol important. Multe substanţe îşi datorează rezistenţa la descompunere, trecerii în complexe insolubile cu diferiţi cationi bi şi trivalenţi. Complexele metaloorganice sînt comune în sol, mai ales cele pe bază de fier, aluminiu şi calciu.

În fine, constituţia chimică a substanţei însăşi joacă un mare rol. Astfel, polizaharidele care se acumulează în sol sînt în cea mai mare parte de origine microbiană (Whistler şi Kirby, 1956). Rezistenţa lor la descompunere se datorează în parte faptului că monozaharidele din care se compun sînt metilate (Duff, 1961). Substanţele fenolice, ciclizate rezistă şi ele mai mult în cazul în care sînt metilate (Bu'Lock şi Smith, 1961). Acesta este şi cazul lignînelor. Ladd (1956) consideră că rezistenţa humusului se datoreşte blocării posibilităţilor de reacţie ale moleculei prin formarea dezordonată a unor legături covalente. Acesta este motivul pentru care, descompunerea sa presupune participarea unui număr mare de exoenzime, produse de diverse microorganisme.

Scanned with OKEN Scanner

În ceea ce privește substanțele fitofarmaceutice, s-au stabilit reguli stricte de biodegradabilitate, în funcție de structură. Această problemă va fi expusă mai pe larg la capitolul corespunzător. Sintetizînd cele expuse mai sus, Alexander (1956) definea astfel biodegradabilitatea: „Biodegradabilitatea sau recalcitranța moleculară este o caracteristică a fiecărei substanțe într-un ecosistem definit, depinzînd de potențialul energetic al substanței și caracteristicile întregii populații a ecosistemului".

3. INFLUENȚA FACTORILOR DE MEDIU ASUPRA MICROPOPULAȚIEI SOLULUI

3.1. EFECTUL pH-ULUI ASUPRA MICROORGANISMELOR DIN SOL

Cea mai mare parte a micropopulației solului preferă un pH apropiat de neutralitate. De aceea, în solurile neutre se întîlnește microflora cea mai abundentă și variată. Chatterjee și Dalal (1968) lucrînd pe modele, au găsit că cel mai mare număr de microorganisme se dezvoltă în solul menținut la pH 7,2 (fig. 12).

Din punctul de vedere al preferințelor față de aciditatea solului, microorganismele pot fi grupate astfel:

— neutrofile — preferînd un pH în jur de 7. În această categorie intră nu numai cel mai mare număr de microorganisme din sol, dar și cele mai importante pentru fertilitatea sa (*Azotobacter*, cu excepția speciei *A. gallophylum*, bacteriile nitrificatoare autotrofe, microorganismele celulolitice cele mai active, actinomicetele);

— acidofile — cu dezvoltare maximă la pH în jur de 3, exemplu, genul *Thiobacillus*;

— bazofile — cu dezvoltare maximă la pH mai mare de 8, exemplu, *Bacillus ureolitici*;

— indiferente — în această categorie intră majoritatea ciupercilor (Meyer, 1963).

În sol, pH-ul intervine ca factor de reglaj al competiției pentru hrană. Ciupercile, care pot tolera o gamă largă de valori ale reacției solului, cu precădere în domeniul reacției acide, pot concura cu succes toate celelalte grupe de microorganisme în solurile acide.

Numărul microorganismelor din sol crește pe măsura aprovizionării acestuia în cationi schimbabili, mai ales în calciu (Chaterjee și Dalal, 1968). De aceea, calcarizarea solurilor acide stimulează net activitatea lor biologică (Waksman și Starkey, 1923; Allison și Cover, 1960). În plus, s-a constatat că stimularea activității microbiene prin calcarizare, este cu atît mai puternică cu cît pH-ul solului neamendat a fost mai scăzut (Winson, 1919).

În țara noastră, experiențele efectuate de Ștefanic și colab. (1971 a) pe podzolul argiloiluvial exogleizat de la Stațiunea experimentală Livada, județul Satu Mare, au arătat că pentru sporirea activității biologice a solului este necesară neutralizarea în întregime a acidității prin

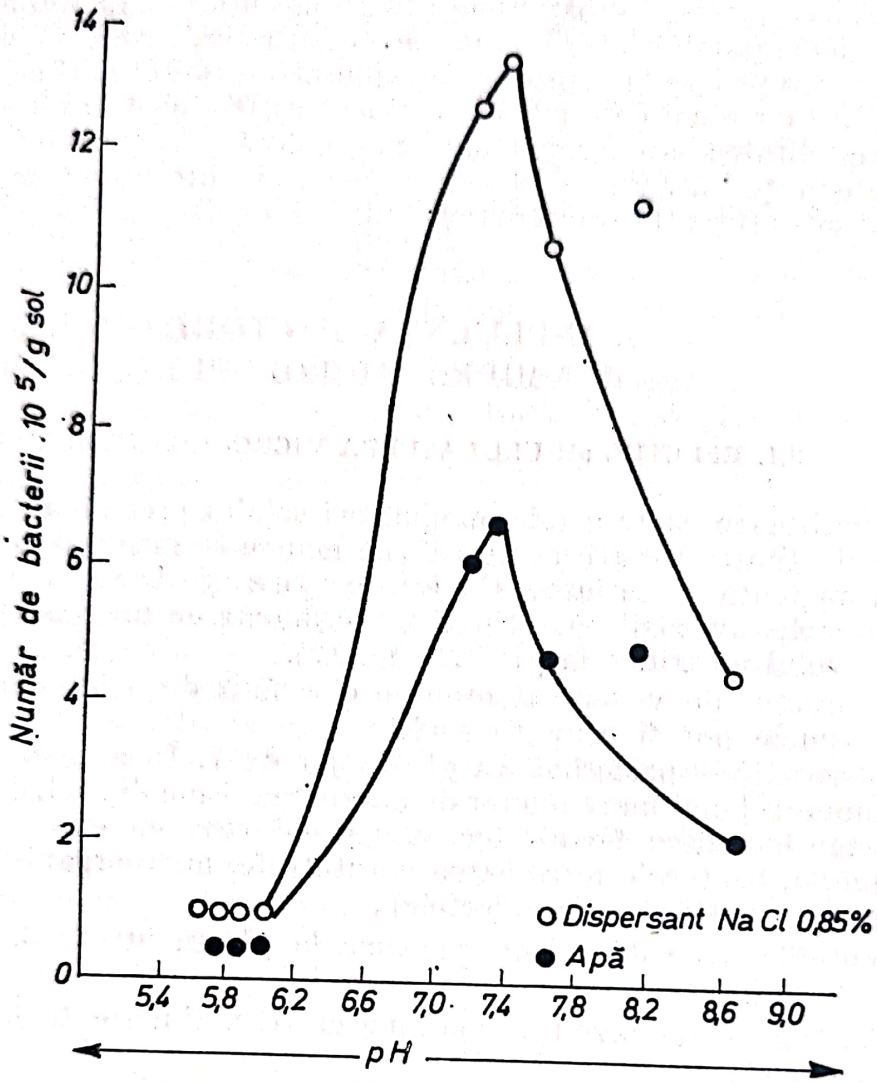


Fig. 12. Numărul de bacterii din sol în funcție de pH (după Chaterjee și Dalal, 1968)

calcarizare și aprovizionarea solului cu elemente nutritive. S-a constatat totodată că diferitele forme sub care se administrează calciul, nu influențează concludent activitatea microbiană a solului.

3.2. TEMPERATURA ȘI ACTIVITATEA MICROBIANĂ A SOLULUI

După cum se știe, microorganismele pot desfășura o activitate vitală, numai între anumite limite de temperatură. Sub raportul adaptării la factorul termic, microorganismele pot fi :

— psihrofile (adaptate să-și desfășoare activitatea metabolică la temperaturi joase.) În această categorie intră cea mai mare parte a micropopulației solurilor polare ;

— mezofile ;

— termofile (adaptate la un metabolism intens la temperaturi relativ ridicate). În această categorie intră numeroase specii de microorganisme din gunoiul de grajd.

În grupul microorganismelor mezofile se încadrează cele mai multe și importante bacterii din solurile temperate. Optimul de activitate metabolică al acestora se situează în jur de 30°C. De regulă, pentru temperaturile suboptimale, fiecare creștere cu 10°C dublează activitatea biologică din sol.

3.3. ENERGIA RADIANTĂ ȘI MICROFLORA

În legătură cu regimul termic este și regimul de lumină. Lumina solară are o acțiune extrem de nocivă asupra microflorei solului, chiar și asupra unor microorganisme fotosintetizante, cum sînt algele. Dimpotrivă lumina difuză a zilei, indiferentă sau ușor nocivă pentru majoritatea microorganismelor, este indispensabilă activității vitale a microbilor fotosintetizanți. Încă din secolul trecut, s-a arătat că acțiunea bactericidă a luminii se datorește mai ales radiațiilor din domeniul albastru-violet al spectrului (Downes și Blunt, 1877), care induc în celulele microbiene formarea de peroxizi (Kunze, 1895) sau determină hidroliza proteinelor (Larouquette, 1931).

O acțiune bactericidă puternică exercită radiațiile ultraviolete, mai ales în domeniul lungimilor de undă cuprinse între 2000 și 3000 Å, dar efectul lor poate fi neglijat avînd în vedere că au o putere redusă de pătrundere în sol.

În sol există o cantitate oarecare de elemente radioactive, mai ales în solurile formate din roci vulcanice. Stoklasa (1931) a atras atenția asupra influenței pe care acestea o pot avea asupra microflorei: stimularea nodulării leguminoaselor, a bacteriilor din genul *Azotobacter*, a proteolizei și denitrificării.

O influență oarecare exercită și radiațiile cosmice, dar din păcate se cunosc puține date cu privire la acest factor.

3.4. COMPOZIȚIA MINERALOGICĂ A SOLULUI ȘI MICROFLORA

Influența diferitelor formații minerale din sol asupra microflorei depinde nu numai de conținutul total al acestora în diferite elemente, ci și de susceptibilitatea lor la alterare fizico-chimică și biologică, proces prin care aceste elemente devin accesibile microorganismelor și plantelor.

Mineralele argiloase au o influență deosebită asupra microflorei, datorită activității specifice de suprafață și a proprietăților de adsorbție legate de aceasta. Procesul de adsorbție a materiei organice depinde de natura sa, de natura argilelor, cît și de gradul de saturare a acestora cu diferiți cationi.

Formarea agregatelor argilo-humice este, după cum se știe, baza structurării solului. Sub formă adsorbită, materia organică devine mai

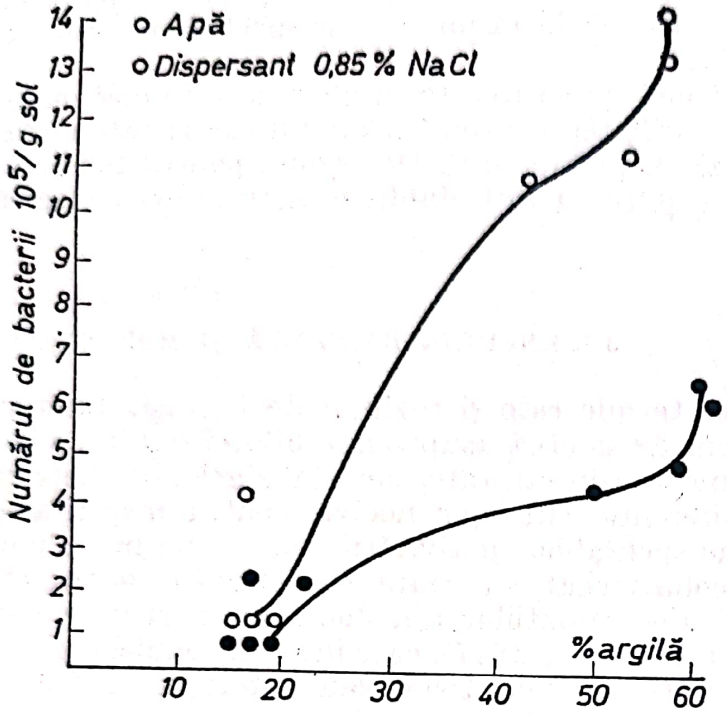


Fig. 13. Numărul de bacterii din sol în funcţie de conţinutul acestuia în argilă (după Chaterjee şi Dalal, 1968)

rezistentă la atacul microbian, ceea ce influenţează în mod considerabil atît viaţa microbiană, cît şi plantele superioare.

Printre substanţele organice adsorbite sînt şi numeroase enzime, care în această situaţie sînt ferite de degradare şi continuă un anumit timp să provoace reacţiile specifice în sol. Cerna (1966) a arătat că activitatea zaharazică şi ureazică a solului creşte paralel cu suprafaţa specifică a agregatelor. Influenţa conţinutului solului în argilă asupra numărului microorganismelor din sol (figura 13) este foarte bine evindeţiată de datele lui Chatarjee şi Dalal (1968).

Flaig şi colaboratorii (1971) arată că în prezenţa mineralelor argiloase se accelerează creşterea ciupercilor, consumarea de către acestea a materialului energetic şi plastic, precum şi intensitatea humificării.

4. ACTIVITATEA MICROBIANĂ A DIFERITELOR SOLURI

Variaţia microflorei în funcţie de factorii amintiţi duce evident la o seriere a activităţii biologice a diferitelor tipuri de sol. Variaţia microflorei în funcţie de tipul de sol a fost observată de Timonin (1935).

Problema variaţiilor taxonomice ale microorganismelor în diferite tipuri de sol a fost intens studiată de către Mişustin (1953). Cercetătorul sovietic a arătat că paralel cu modificarea tipurilor de sol din nord către sud (în partea europeană a U.R.S.S.) are loc o modificare a micropopulaţiei, exprimată printre altele în schimbarea speciilor dominante de bacilacee şi microorganisme celulolitice.

Variaţia microflorei în funcţie de tipul de sol nu trebuie legată numai (sau în primul rînd) de factorii climatici. Mişustin (1953) arată că modificarea condiţiilor de nutriţie are o importanţă foarte mare, unele specii de bacilacee depinzînd de o intensă capacitate de nitrificare a solului.

Scanned with OKEN Scanner

Peyronel (1956) a alcătuit un tablou al răspîndirii ciupercilor în diferite soluri.

Cercetări de peste 20 de ani intreprinse de Papacostea (1972) au scos în evidență existența în solurile românești a unor microorganisme indicatoare caracteristice tipurilor de sol. Pe baza acestor microorganisme s-a putut stabili o clasificare a solurilor în trei grupe mari :

— Soluri cu *Mucor rammanianus*, cuprinzînd de la solurile foarte acide ale pajiștilor alpine pînă la solurile brune-acide oligotrofe sub pădure de molid. Sînt soluri nefavorabile pentru exploatarea agricolă.

— Soluri cu *Pseudomonas acidophilus* și *P. pseudogley* (Missirliu și colab., 1964). Din această grupă fac parte solurile podzolice pseudogleizate.

— Solurile cu *Pseudomonas lemonnieri* și *Pseudomonas aureofaciens* sînt cele mai fertile, formate sub climat mai uscat, cu precipitații cuprinse între 400—600 mm pe an. În cadrul acestei grupe se pot separa ca o subdiviziune, solurile cu exces de umiditate de tipul lăcoviștilor sau a fostelor funduri de lac.

Au fost găsite și alte microorganisme capabile să indice caracteristicile ecologice. S-a stabilit că raportul dintre numărul de *Bacillus circulans* și *Bacillus megaterium* dă indicații despre însușirile solurilor, legate de condițiile climaterice sub care s-au format.

4.1. VARIAȚIILE SEZONIERE ALE MICROFLOREI

Microflora fiecărui tip de sol se modifică în cursul unui an în linii mari paralel cu variația factorilor climatici. Aceasta este așa-numita „variație sezonieră" a microflorei. În regiunile temperate, procesele microbiene din sol ating intensitatea maximă primăvara și uneori toamna, cu perioade de minim iarna și vara (Newton, 1930; Verona și Picci, 1931).

Variația sezonieră afectează în primul rînd straturile superficiale ale solului, estompîndu-se pe măsura coborîrii în profunzime.

Asupra cauzelor acestui fenomen se poartă numeroase discuții. Legătura dintre dinamica sezonieră și factorii climatici este evidentă, dar o relație cauzală directă este puțin probabilă. Conn și Lochhead (1924) au arătat că înghețul nu diminuează numărul bacteriilor din sol, iar alte observații atestă că reluarea activității intense a microflorei, toamna, precede începerea sezonului ploios.

S-a explicat variația sezonieră și prin acumularea și descompunerea ritmică a unor toxine în sol. Fedorov (1957), Korneev (1968) explică variația sezonieră a micropopulației solului printr-o variație corespunzătoare a surselor de hrană care, asemenea activității microbiene, diminuează din primăvară pînă în toamnă.

Trebuie admis că asemenea multor ritmuri biologice și variația sezonieră are o autonomie față de factorii externi care au determinat-o în decursul unei adaptări îndelungate; ea are loc și în condițiile menținerii solului în laborator la temperatură și umiditate constantă.

Scanned with OKEN Scanner

În afara variaţiilor sezoniere, Hudiakov (1926) afirmă că microflora ar mai suferi variaţii ritmice în decurs de cîteva zile sau chiar în timp de 24 de ore (Thornton şi Gray, 1930).

4.2. PROFILUL MICROBIAN AL SOLULUI

Luînd în considerare influenţa pe care aeraţia o exercită asupra activităţii biologice din sol, se poate trage concluzia că aceasta scade cu adîncimea, avînd loc în paralel o creştere relativă a importanţei proceselor anaerobe. Într-adevăr, această ipoteză teoretică se verifică în cele mai multe cazuri.

Ar fi însă greşit să atribuim scăderea numărului de germeni microbieni pe profilul solului exclusiv aeraţiei sau chiar în primul rînd aeraţiei : această distribuţie reflectă în largă măsură şi condiţiile de nutriţie pe care microorganismele le găsesc în sol şi care sînt mai bine satisfăcute în orizonturile de la suprafaţă, datorită cantităţii mai mari de humus şi aprovizionării mai frecvente cu resturi organice. De aceea pe profilul solului scade şi numărul absolut al germenilor anaerobi, în vreme ce procentajul lor creşte, datorită tensiunii scăzute de oxigen (Poschenrieder şi Beck, 1962).

Uneori se poate observa o creştere a numărului de microorganisme de la suborizontul A_0 la A_1 sau de la A_1 la A_2 şi A_3, sau chiar de la orizontul A la B. Aceste inversări se datoresc proprietăţilor materiei organice, mai puţin aptă de a furniza microflorei elementele necesare în suborizontul A_0, uscării crescînde a solului pe măsura apropierii de suprafaţă, efectului radiaţiei solare sau spălării prea intense a păturilor superficiale ale solului.

Influenţa pe care o exercită factorii fizici din sol asupra microorganismelor este legată de textura şi structura solului. Structura şi textura solului depind însă de compoziţia chimică a diferitelor fracţii minerale şi organice din sol, compoziţie chimică, ce este şi ea în mare măsură un rezultat al activităţii microbiene a solului.

Influenţa directă a structurii solului (atît datorită diferenţierii condiţiilor de aeraţie, cît şi compoziţiei chimice calitativ diferite a agregatelor de sol, de diferite mărimi) a fost observată de către Hulpoi şi colab. (1970b). Autorii au arătat că pentru acelaş tip de sol, există o diferenţiere a distribuirii microorganismelor şi a activităţii lor în funcţie de mărimea agregatelor.

5. INTERRELAŢII MICROBIENE ÎN SOL

Este binecunoscut de către toţi cei ce lucrează în microbiologia solului faptul că o specie microbiană în cultură pură suportă variaţii relativ mari ale factorilor fizici şi chimici din mediul său de existenţă. În sol însă, o variaţie a unui factor de mediu, care în cultură pură nu influenţează, poate provoca dispariţia microorganismului studiat. Aceasta este în primul rînd efectul acţiunii de concurenţă a altor specii microbiene, în condiţiile căreia o dezechilibrare oricît de neînsemnată a raportului microorga-

nism-mediu este suficientă pentru a determina eliminarea indivizilor speciei dezavantajate. D a r w i n, în monumentala sa lucrare, „Originea speciilor" a remarcat că dispariția totală, sau din anumite areale a unor specii, nu ar fi fost posibilă sub acțiunea directă a factorilor de mediu, așa cum presupuneau lamarkiștii. Conform opiniei sale, eliminarea unei specii dintr-un biotop dat, se poate realiza numai prin intermediul luptei pentru existență, a acțiunii concurente a celorlalte specii. În microbiologia solului acest principiu darvinist a fost aplicat de către W i n o g r a d s k y sub forma așa-numitului „principiu ecologic". P o c h o n și de B a r j a c (1958) arată că „lupta pentru a obține elementele nutritive indispensabile, pare a fi o regulă în sol".

W a k s m a n (1952) împarte raporturile antagoniste dintre microorganismele solului în :

— raporturi de concurență pentru sursa nutritivă ;

— raporturi de amensalism, situația în care un microorganism modifică condițiile de mediu într-un sens nefavorabil pentru concurenți;

— raporturi de antibioză, care pot fi privite ca un caz particular de amensalism sau de concurență (G a r r e t t, 1956).

Competiția și amensalismul se pot completa reciproc. S i m i n o f f și G o t t l i e b (1951) au arătat că *Streptomyces griseus* produce streptomicină care inhibă *Bacillus subtilis*. Inhibarea acestei bacterii se produce și datorită competiției pentru elementele nutritive din mediu, probă că are loc și în prezența tulpinilor de *S. griseus* care nu secretă streptomicină. S k i n n e r (1956) a observat că adaosul de minerale argiloase inactivează substanțele antibiotice produse de *Streptomyces albidoflavus* și active față de *Fusarium culmorum*. Ciuperca este însă inhibată și în prezența argilelor, datorită puternicului efect de concurență a lui *S. albidoflavus :*

— raporturi de parazitism, în care o specie microbiană este parazitată de o alta. În sol este binecunoscută parazitarea ciupercilor de către bacterii, îndeosebi de către bacteriile din genul *Pseudomonas*. Posibilitatea unei specii microbiene de a parazita o alta, este legată de o anume adaptare a echipamentului enzimatic al speciei parazite. Astfel, ciuperca *Fusarium oxysporum* poate fi parazitată de microorganisme care au în echipamentul lor enzimatic atît chitinază, cît și β 1-3-glucanază. Numai aceste microorganisme pot dezorganiza peretele celular al gazdei, care conține atît chitină, cît și laminarină (β-1,3 glucan) și pătrunde la celulele ce urmează a fi parazitate ;

— raporturi de predație, în care un microorganism vînează activ un altul, folosindu-l ca sursă de hrană (caz extrem de frecvent în lumea animală a solului). Se cunosc și ciuperci care consumă animale mici, bacterii predatoare (*Bdelovibrio bacteriovorum*), protozoare, metazoare și chiar virusuri consumatoare de microorganisme (fagi).

Raporturile antagonice dintre diferitele categorii de reprezentanți ai micropopulației solului au trezit speranțe în legătură cu posibilitatea dirijării lor pentru protejarea plantelor cultivate. Mijloacele de luptă biologică împotriva dăunătorilor, după cum se știe, capătă o importanță tot mai largă, pe măsură ce mijloacele chimice de combatere își vădesc neajunsurile. Ele constituie, după cum s-a subliniat „arma viitorului".

Pînă în prezent folosirea acestor mijloace de combatere s-a dovedit ineficace. Succesele care s-au obţinut se leagă, nu de inocularea solului cu diferiţi antagonişti, ci de modificarea condiţiilor ecologice ale parazitului şi antagoniştiştilor săi, în favoarea acestora din urmă. Astfel, în cazul ciupercilor *Fusarium oxysporum*, foarte eficace s-a dovedit încorporarea în sol a chitinei şi laminarinei , prin care s-a provocat creşterea numărului de microorganisme capabile să descompună aceste substanţe, aflate şi în membrana protectoare a ciupercii. Metoda are deocamdată numai o importanţă teoretică, datorită costului ridicat.

M i l l a r d (1921) a obţinut scăderea considerabilă a atacului de *Streptomyces scabiae* la cartof, prin încorporarea de îngrăşămînt verde. Aceasta a avantajat în sol concurenţii naturali ai parazitului (S t a n f o r d, 1926).

În sol se pot observa nu numai raporturi antagonice între organisme, ci şi raporturi de stimulare denumite sinergice. În numeroase cazuri, o specie microbiană îşi realizează efectul specific în cultură pură cu randament mai scăzut decît în cultură mixtă cu alte microorganisme.

A l e x a n d e r (1968) împarte raporturile sinergice dintre microorganisme în :

— raporturi de comensalism, prin care un anumit microorganism beneficiază de activitatea altuia fără reciprocitate. Se cunosc numeroase cazuri cînd o grupă de microorganisme modifică însuşirile fizice ale mediului într-un fel favorabil altei categorii (microorganismele aerobe prin consumul de oxigen favorizează pe cele anaerobe). Acelaşi fenomen are loc şi în legătură cu unele însuşiri chimice : spre exemplu, flora mineralizantă, producînd amoniac, favorizează nitritbacteriile, acestea, nitratbacteriile ş.a. ;

Noţiunea de comensalism este identică cu metabioza. În acest sens, se poate spune că, de fapt, toate circuitele elementelor reprezintă exemple de succesiuni de metabioză:

— raporturi de protocooperare, în care cei doi parteneri se avantajează reciproc, fără ca asociaţia să aibă un caracter permanent. În sol adeseori algele produc substanţe energetice pentru *Azotobacter*, iar acesta la rîndu-i le aprovizionează cu azot. Aceste raporturi au însă un caracter întîmplător ;

— raporturi de simbioză, a căror formă clasică o găsim la licheni. În această asociaţie, ciuperca absoarbe apa cu sărurile minerale nutritive, iar alga realizează fotosinteza. Nu rareori lichenii intră în raporturi de protocooperare cu fixatorii de azot. În acest caz, asociaţiile se pot instala pe roca goală, iniţiind procesele de solificare.

6. INTERRELAŢIILE DINTRE PLANTELE SUPERIOARE ŞI MICROORGANISMELE DIN SOL

Plantele dezvoltîndu-se în mediul lor natural, intră în concurenţă pentru hrană cu microorganismele. Concurenţa pentru diferitele elemente de nutriţie nu epuizează însă totalitatea raporturilor dintre plante şi microorganismele din sol şi nici nu reprezintă esenţa relaţiilor dintre ele.

Scanned with OKEN Scanner

Încă din 1895, Caron a emis ideea că prezența bacteriilor în sol ar putea să aibă un efect favorabil asupra plantelor de cultură și invers, că plantele la rîndul lor, ar avea o acțiune favorabilă asupra florei bacteriene din sol. Hiltner, în 1904 și Stoklasa, în 1926, au ajuns la convingerea că rădăcinile plantelor au o influență specifică asupra microbilor din sol și că anumite specii bacteriene din rizosferă sînt absolut indispensabile dezvoltării și creșterii plantelor, trăind în sinergism cu ele (Kaunat, 1963).

6.1. INFLUENȚA SISTEMULUI RADICULAR AL PLANTELOR ASUPRA MICROFLOREI SOLULUI

Cercetările întreprinse după 1929, data apariției primelor lucrări ale lui Starkey referitoare la rizosferă, atestă cu fermitate observațiile lui Hiltner și cele ale lui Stoklasa. Clark (1940), analizînd probe de sol de la diferite distanțe de rădăcină și chiar de la suprafața rădăcinii, a obținut date care demonstrează influența favorabilă pe care o are sistemul radicular asupra bacteriilor.

Demonstrarea zonalității în răspîndirea microorganismelor în sol, în jurul rădăcinilor plantelor, i-a determinat pe cercetători să împartă rizosfera în mai multe zone.

Perroti (1926) a considerat rizosfera ca avînd o limită exterioară pe care a denumit-o „edafosferă", unde influența rădăcinilor nu se mai face simțită, precum și o limită internă, la suprafața rădăcinii, în care se admite, în general, că lipsesc microorganismele și pe care a denumit-o „histosfera". Cercetătorii anglosaxoni folosesc adesea expresiile „closer-rhizosphere" pentru a determina solul în contact direct cu suprafața rădăcinii și „outer-rhizosphere" ca opusă primei noțiuni. Daste (1958) stabilește corespondentul acestor noțiuni pentru limba franceză și anume „rhizosphère proche" și respectiv „rhizosphère au sens large" sau pe scurt „rhizosphère". Berezova (1950.a) definește în cadrul rizosferei un număr de 3 zone, care se deosebesc între ele atît în privința densității microbiene, cît și prin structura speciilor de microorganisme. Prima zonă cuprinde microorganismele de la suprafața rădăcinilor. Această zonă, denumită „zona radiculară" a fost confirmată de Rivière (1957), care consideră totuși mai justă denumirea de „zonă radicelară". A doua zonă cuprinde microorganismele care se găsesc la o distanță de 0,5 cm de rădăcină. Krasilnikov a denumit această zonă „zona periradiculară". A treia zonă cuprinde microorganismele ce se găsesc la o distanță mai mare de 0,5 cm și care a fost denumită de Berezova (1950, a) „zona rizosferică". Considerăm că acest mod de subdivizare a zonei rizosferice (înțeleasă în totalitatea ei) aduce preciziune în interpretarea rezultatelor obținute în baza diferitelor metode de analiză folosite de cercetătorii de pretutindeni.

Cele prezentate pînă aici înfățișează aspectul cantitativ al efectului de rizosferă, dar influența rădăcinilor asupra microflorei din sol se manifestă și prin modificarea raportului dintre diferitele grupe de microorganisme, ceea ce duce la modificarea echilibrului microbian al solului. Hulpoi, (1936) aplicînd metoda Rossi-Holodnîi la studiul rizosferei, fundamentează experimental observațiile lui Rippel-Bal-

des; că în apropierea rădăcinilor pot fi observate depuneri de bacterii, obţinînd cîteva tablouri caracteristice de aglomerare de bacterii pe perii radicelari.

Stille (1938) a confirmat observaţiile lui Hulpoi. Krasilnikov şi colab. (1936) au găsit că în rizosfera plantelor predomină bacteriile nesporogene. Lochhead (1939), cercetînd structura microbiologică a rizosferei, a ajuns la concluzia că într-un anumit sol, există un echilibru între diferitele grupe de bacterii. Creşterea plantelor provoacă schimbări profunde (şi se pare caracteristice) în echilibrul dintre diferitele grupe de nutriţie. Dintre acestea, cea mai importantă pare a fi stimularea organismelor cu cerinţe nutritive simple şi a celor care folosesc aminoacizi, precum şi inhibarea celor care depind de substanţele nutritive mai complexe, conţinute în extractul de sol. Cook şi Lochhead (1959), cercetînd microflora din rizosfera plantelor, constată de asemenea că numărul de bacterii care necesită substanţe biologic active este în procentaj din ce în ce mai mic, pe măsură ce se află mai aproape de rădăcină, iar bacteriile capabile să le sintetizeze au fost mai numeroase. Chalvignac (1962 a) constată că puterea ridicată de sinteză şi nivelul înalt de creştere se găsesc aproape totdeauna asociate în aceeaşi tulpină bacteriană. Astfel, tulpinile cu capacitate înaltă de sinteză sînt stimulate efectiv sub influenţa secreţiilor radicelare (cu toate că, în final, selecţia pare să se facă în principal prin favorizarea tulpinilor cu multiplicare rapidă, comparativ cu cele cu multiplicarea lentă), deşi acestea ar putea beneficia, în lipsa concurenţei, de aminoacizii şi factorii de creştere ce se găsesc din belşug în rizosferă. Sinergismul şi concurenţa joacă un rol major în echilibrul rizosferei.

În 1961, Rouatt şi Katznelson au găsit în rizosfera grîului o predominanţă a bacterilor gram-negative (îndeosebi *Pseudomonodaceae*), fapt confirmat şi de Rivière (1963). Rovira (1956), în scopul de a demonstra că efectul de rizosferă se datoreşte în special secreţiilor radicelare, a adăugat solului soluţia nutritivă care conţine substanţele eliberate în ea de rădăcinile de mazăre. Paralel, alte probe de sol au fost tratate numai cu soluţia nutritivă (păstrată ca martor, fără plante). El constată stimularea selectivă a bacteriilor gram-negative sporogene, ca unul din cele mai stabile criterii de apreciere a efectului de rizosferă. O experienţă similară, cu rezultate identice, a realizat şi Rivière (1958), folosind secreţiile plantelor de grîu.

6.1.1. Natura secreţiilor radicelare şi influenţa lor asupra structurii taxonomice a microflorei solului

Încă de la primele observaţii privind existenţa densităţii deosebite a microorganismelor în jurul rădăcinilor, Hiltner trăgea concluzia că secreţiile unei plante leguminoase determină proliferarea altor microorganisme decît secreţiile muştarului sau ovăzului.

Analizele chimice ale secreţiilor radicelare atestă unele diferenţe care ar forma baza materială a diferenţierii microflorei între diferitele rizosfere. Astfel, Lundegardh şi Stenlid, în 1944, lucrînd cu

rădăcini extirpate, au găsit că glucoza, flavonele și nucleotidele au fost excretate de grîu, în timp ce mazărea secretă glucoză și nucleotide, dar nu și flavone. Autorii sugerează că diferențele între constituenții secreției radicelare de la mazăre și grîu pot fi luate în considerație la diferențierea populațiilor microbiene din rizosferă.

Rovira, în 1956, analizînd compoziția materialului secretat de rădăcinile de mazăre și ovăz cultivate în nisip de cuarț, stabilește că mazărea elimină prin rădăcini cantități mult mai mari de aminoacizi decît ovăzul. Totodată seria aminoacizilor este mai variată la mazăre, cuprinzînd un număr mai mare de compuși aminici.

O altă categorie de substanțe care sînt eliminate de rădăcini este aceea a substanțelor biologic active. Acestea au un rol deosebit în stimularea înmulțirii microorganismelor din rizosferă. La mazăre și la porumb, Meskov (1952) a pus în evidență, în cantitate mai mare, tiamină și biotină. Chalvignac (1962) a găsit în lichidul de cultură al plantelor de in, cultivat aseptic, riboflavină, tiamină, acid pantotenic, acid folic și acid nicotinic. Rovira (1956), cercetînd secrețiile radicelare a numeroase specii de plante, a găsit în mod frecvent biotină, pantotenat și niacin, în timp ce riboflavina și tiamina au fost găsite ocazional, iar piridoxina nu a fost descoperită în secrețiile niciunei plante. Mazărea elimină cantități mari de biotină, pantotenat și niacin. Este încă neclar dacă aceste diferențe de ordin chimic pot constitui suportul unei structuri taxonomice caracteristice microflorei din rizosfera diferitelor specii de plante.

În studiul istoric al cercetărilor asupra rizosferei, Starkey (1929) citează opinia lui Hiltner că microflora unei specii de plantă diferă de microflora altei specii. Literatura ulterioară nu furnizează suficiente date care să dovedească existența unei microflore specifice diferitelor plante.

O analiză critică a rezultatelor și concluziilor la care au ajuns cercetătorii care s-au ocupat cu studiul microbiologic și chimic al rizosferei plantelor, scoate în relief în mod clar următoarele:

— În primul rînd că în jurul rădăcinilor plantelor care vegetează normal, există un număr de microorganisme care întrece de zeci de ori numărul celor existente în solul lipsit de rădăcini. Aceasta îndreptățește concluzia că învelișul vegetal al solului exercită o influență favorizantă asupra microflorei, mărind densitatea ei. Indiferent de tehnicile folosite în cercetarea rizosferei, acest lucru este demonstrat în unanimitate de toți cercetătorii.

— În al doilea rînd, s-a dovedit că mecanismul stimulării microflorei se bazează pe capacitatea plantelor de a elimina prin rădăcinile lor, substanțe cu rol energetic, plastic și de stimulare a creșterii. Microorganismele care sînt stimulate cu precădere în rizosferă, sînt bacteriile nesporogene gram-negative, neramificate și dintre acestea, cele care domină sînt bacteriile din genul *Pseudomonas*.

— În al treilea rînd selecționarea microflorei rizosferei se datorează interacțiunii microbiene. Microbii cu un potențial ridicat de sinteză a substanțelor biologic active, dotați cu capacitate mare de înmulțire și

capabili să se hrănească cu produsele de eliminare ale rădăcinilor, precum şi cei care în cursul metabolismului lor produc substanţe care inhibă înmulţirea altora, ajung dominanţi în structura microbiologică a rizosferei.

6.1.2 Influenţa factorilor externi asupra cantităţii şi calităţii secreţiilor radicelare ale plantelor

În această problemă, cercetările sînt puţine şi destul de fragmentate. În general este cunoscută influenţa mediului asupra metabolismului oricărui organism. În mod logic schimbarea metabolismului la o plantă trebuie să ducă la modificări cantitative şi calitative în materialul eliminat prin rădăcini şi prin aceasta la influenţarea microflorei radicelare.

a. **Condiţiile de nutriţie.** Cantitatea şi calitatea produşilor eliminaţi de rădăcini este influenţată de nivelul nutriţiei plantelor. K a n d l e r (1951) a demonstrat prin experienţele sale cu porumb cultivat în soluţii nutritive, că nici un aminoacid nu este eliminat de preferinţă în mod activ de către rădăcini, ci dimpotrivă, că există o proporţie clară între eliminarea şi concentraţia lor din rădăcini. Experienţele au arătat că rădăcinile cultivate „in vitro", au capacitatea de a sintetiza cantităţi mari de aminoacizi, dacă sînt mai bine aprovizionate cu azot şi glucide. La un surplus de azot, cantitatea de aminoacizi în soluţie creşte, în timp ce la carenţă de azot, aminoacizii iniţial eliminaţi, sînt recuperaţi. Trebuie să se menţioneze un lucru deosebit de important pentru înţelegerea modului de realizare a efectului de rizosferă: în condiţiile unei aprovizionări diferite cu azot, la produşii de eliminare ai rădăcinilor de porumb, s-a schimbat numai cantitatea, nu şi numărul de aminoacizi.

În ceea ce priveşte conţinutul în calciu al mediului nutritiv, R o v i r a (1956) nu a găsit nici o corelaţie cu cantitatea de substanţe eliminate de rădăcini. El a găsit însă o influenţă favorabilă a acestuia asupra numărului de microorganisme din rizosferă.

b. **Umiditatea.** Despre influenţa umidităţii asupra secreţiilor radicelare sînt foarte puţine referiri în literatură. Semnalăm cercetările lui K a t z n e l s o n şi colab. (1956) asupra mazării, grîului şi orzului cultivat în sol, în nisip şi în amestec de nisip şi sol. Analiza cromatografică evidenţiază că în rizosfera plantelor care au fost supuse la secetă pînă la începutul ofilirii, se găseşte o cantitate mai mare de aminoacizi, decît în rizosfera plantelor care au fost menţinute la umiditate normală.

c. **Reacţia mediului.** În ceea ce priveşte influenţa pH-ului din substratul de cultivare a plantelor asupra secreţiilor radicelare este interesant să prezentăm experienţele intreprinse de A n d r e e n k o şi colab. (1963), prin care s-a stabilit că seva vehiculată prin rădăcinile de porumb a scăzut simţitor în cantitate, pe măsură ce pH-ul mediului a devenit mai acid, ceea ce confirmă perturbările metabolice care se produc în sistemul radicular al plantelor în aceste condiţii.

În rădăcini, în tot decursul perioadei de vegetaţie, conţinutul în aminoacizi este mai mare la plantele cultivate la pH 7, dar diferenţa cantitativă este destul de mică faţă de varianta cu pH 4. Calcularea conţinutului procentual de aminoacizi faţă de total, a arătat că la plantele din ambele

Scanned with OKEN Scanner

variante experimentale, componența aminoacizilor este relativ stabilă în tot cursul vegetației. Această constanță a componenței aminoacizilor, îndreptățește presupunerea că substanțele proteice din țesuturile plantelor nu suferă modificări esențiale sub influența pH-ului mediului nutritiv. Dacă se compară cele arătate mai sus cu rezultatele obținute de K a n d l e r (1951), s-ar putea ajunge la ipoteza că pH-ul mediului nutritiv nu influențează în mod deosebit asupra secreției radicelare, deoarece concentrația aminoacizilor în interiorul rădăcinilor nu diferă prea mult la diferitele valori pH ale substratului.

d. **Lumina.** Influența luminii asupra secreției radicelare a fost studiată de R o v i r a (1959) în culturile hidroponice de tomate și trifoi subteran.

Rezultatele prezentate dovedesc că lumina are un efect însemnat asupra eliminării de către rădăcini a aminoacizilor. Odată cu intensitatea luminii crește cantitatea de aminoacizi și se modifică raporturile cantitative dintre aceștia. S r i v a s t a v a (1971) găsește că paralel cu creșterea numărului de ore de lumină planta elimină mai mulți aminoacizi și are în rizosferă mai multe microorganisme.

e. **Temperatura.** Temperaturile înalte stimulează eliminarea aminoacizilor din rădăcinile tomatelor și trifoiului subteran.

f. **Aerația.** Cu privire la influența aerației, R o v i r a (1959) a stabilit că aceasta influențează puțin asupra secreției radicelare. K a n d l e r (1951) determinînd influența oxigenului asupra cantităților diferiților aminoacizi ce sînt eliminați de rădăcinile porumbului, găsește un efect stimulator. Carența în oxigen suprimă eliminarea aminoacizilor.

6.2. VÎRSTA PLANTELOR ȘI EFECTUL DE RIZOSFERĂ

Primele rezultate care să scoată în relief dependența efectului de rizosferă de vîrsta plantelor au fost publicate de S t a r k e y (1929). Acesta a tras concluzia că influența celor mai multe plante nu este mare în stadiile timpurii de creștere și că efectul maxim, în general, apare numai după ce acestea au atins o talie considerabilă, au atins apogeul creșterii vegetative, au înflorit sau au început degenerarea vegetativă. K r a s i l n i k o v (1958) arată că numărul microorganismelor atinge un maxim în perioada de creștere și al doilea maxim după înflorit. Din figura 14 se poate observa, că de fapt, maxima absolută a înmulțirii microflorei rizosferice s-a obținut la toate cele patru plante analizate, în prima perioadă a creșterii lor. Fenomene asemănătoare au fost observate de O b r a z ț o v a (1936) la plante de ceai, de C l a r k și T h o m (1939). T i m o n i n (1940) a determinat la grîu, lucernă, ovăz și mazăre, că efectul de rizosferă prezintă o importantă acțiune, puțin timp după germinare. Cercetările lui R i v i è r e (1963) efectuate asupra grîului de primăvară, în diferite faze de vegetație, au scos în relief că efectul de rizosferă a atins un maxim în perioada înfrățitului.

Constatările destul de diferite pe care cercetătorii menționați le-au făcut referitor la dinamica efectului de rizosferă asupra microflorei din sol, pot fi explicate numai prin metodele improprii folosite la analiza

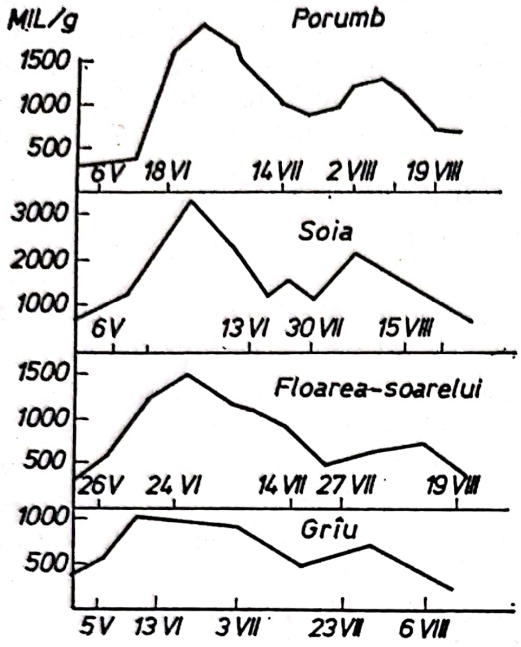


Fig. 14. Dinamica numărului de microorganisme în rizosferă (după K r a s i l n i k o v, 1958).

rizosferei. În general, la analiza rizosferei plantelor se folosesc monoliţi de sol cu rădăcini, cu dimensiuni maxime de 20 × 20 × 20 cm .

Cercetările efectuate de Ş t e f a n i c şi D u m i t r u (1968) au arătat că prin recoltarea monoliţilor după metodele clasice, se recoltează de fapt nu probe reprezentative ale sistemului radicular, ci numai porţiunea de rădăcini de la suprafaţa solului. Rădăcinile din această zonă sînt tinere în primele faze de vegetaţie şi îmbătrînesc odată cu dezvoltarea plantelor. În acelaşi timp însă, rădăcinile din straturile de sol de sub 30 cm adîncime, conţin o proporţie covîrşitoare de rădăcini tinere, nesuberificate, care astfel sînt capabile de schimburi metabolice cu mediul extern. În figura 15 se prezintă curbele înregistrate de numărul total de microorga-

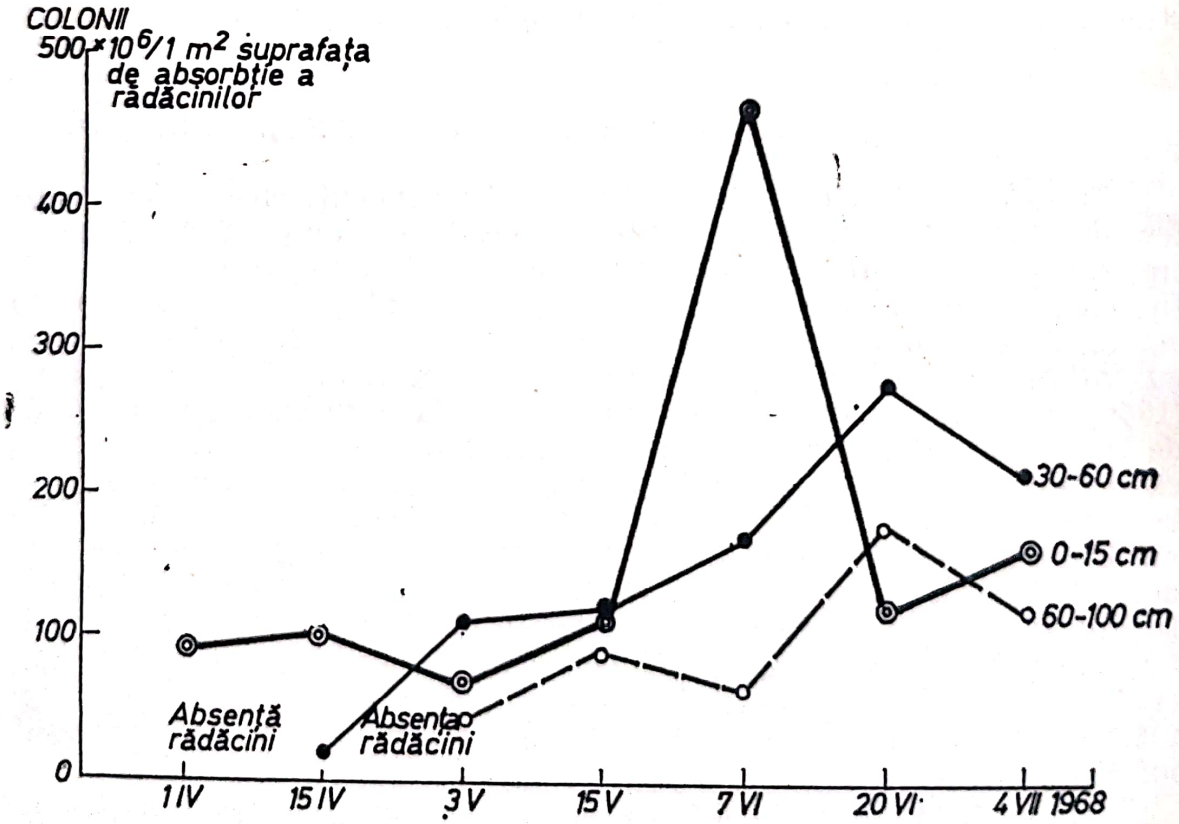


Fig. 15. Numărul total de microorganisme la diferite adîncimi de sol (după Ş t e f a n i c şi D u m i t r u, 1968)

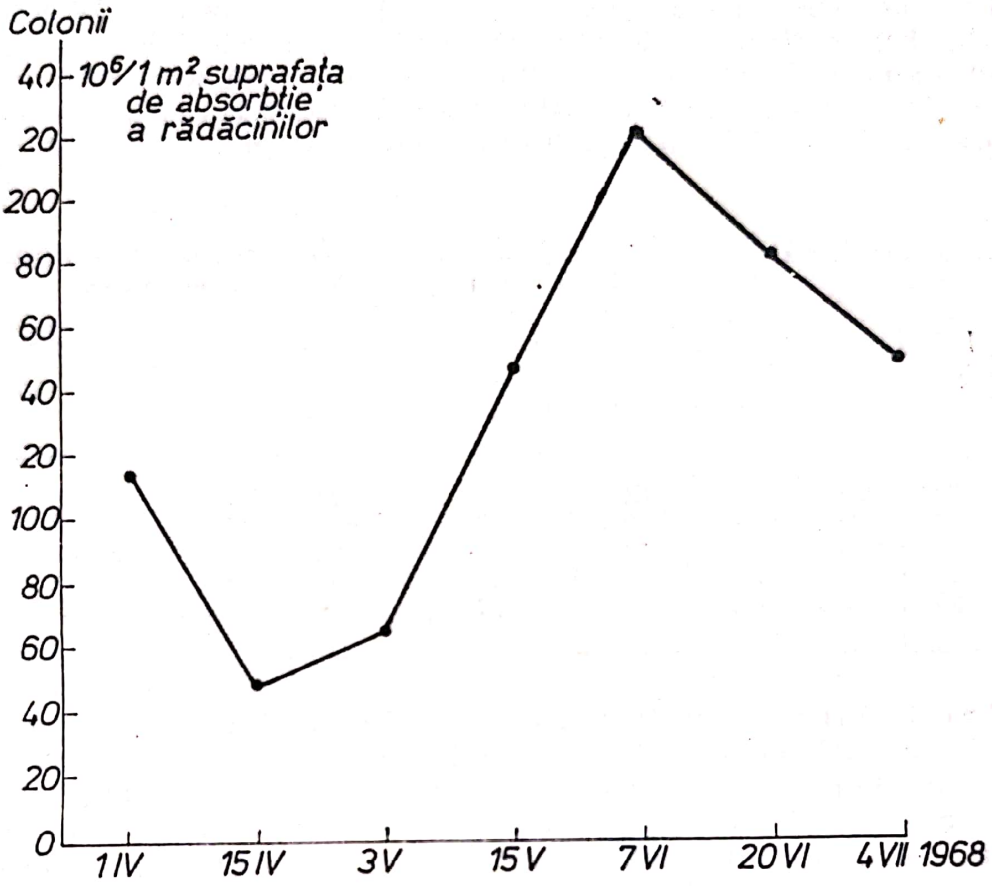


Fig. 16. Numărul mediu al microorganismelor radiculare pe întreg traseul rădăcinii (după Ștefanic și Dumitru, 1968)

nisme radicelare la diferite adîncimi în sol. În figura 16 este prezentată curba numărului mediu al microorganismelor radicelare, calculate pe întregul traseu al rădăcinilor.

Variația numărului mediu de microorganisme radicelare obținut pe baza analizei unei probe reprezentative de rădăcini, reprezintă adevărata dinamică a populării rădăcinilor cu microorganisme, populare care trebuie să fie în strînsă legătură cu intensitatea proceselor metabolice pe care totalitatea sistemului radicular o desfășoară în sol de-a lungul fazelor de vegetație. Astfel, concluziile la care ajunsese Starkey în 1929, le considerăm ca fiind cele mai juste. Efectul de rizosferă al plantelor crește odată cu dezvoltarea acestora, înregistrînd fără îndoială creșteri și scăderi ale intensității, în funcție de influența pe care o manifestă condițiile de vegetație.

6.3. ROLUL MICROFLOREI RIZOSFERICE ÎN VIAȚA PLANTELOR

Capacitatea pe care o manifestă rădăcinile plantelor de a solubiliza substanțe care în mod normal sînt insolubile în sol, a fost semnalată încă

din 1860, de către S a c h s , care a arătat că această însuşire se datoreşte bioxidului de carbon eliminat de rădăcini. Cercetările lui S t o k l a s a din 1924 au scos în evidenţă faptul că există o strînsă corelaţie între cantitatea de bioxid de carbon şi abundenţa microorganismelor în sol sub diferite plante. În tabelul 3 se prezintă datele obţinute de acesta :

Tabelul 3

Influenţa dezvoltării plantelor asupra bacteriilor (milioane la gram de sol) şi formării bioxidului de carbon (mg la 1 kg de sol în 24 ore) după S t o k l a s a , 1924)

Stratul de sol (cm)	Păşune		Lucernă		Grîu		Sfeclă	
	Bacterii	CO_2	Bacterii	CO_2	Bacterii	CO_2	Bacterii	CO_2
10— 20	2,300	16,5	54,800	60,6	24,000	47,5	38,700	56,4
20— 30	2,500	19,4	52,500	62,8	25,600	49,7	41,200	58,2
30— 50	0,140	9,8	14,800	46,3	26,000	28,5	22,000	36,4
50— 80	0,012	3,3	0,770	16,3	2,200	6,6	5,500	8,3
80— 100	0,005	2,2	0,082	3,7	0,049	4,3	0,200	4,8

F r e d şi H a a s , în 1919, au arătat că o placă de marmură este mai puternic atacată de rădăcinile plantelor de mazăre, dacă acestea sînt înconjurate de microorganisme, decît dacă se dezvoltă în condiţii aseptice. Referitor la solubilizarea fosfaţilor cu ajutorul bioxidului de carbon, G e r r e t s e n (1948) a publicat rezultatele unor experienţe proprii, care sînt redate în tabelul 4.

Tabelul 4

Influenţa microorganismelor radicelare asupra creşterii plantelor de ovăz, muştar şi floarea-soarelui cultivate, avînd ca unică sursă de fosfor, fosfatul tricalcic (după G e r r e t s e n , 1948)

Planta	Modul de cultivare	Greutatea totală a plantelor uscate (g)
Ovăz	Steril	3,4
	Contaminat	9,7
Muştar	Steril	10,8
	Contaminat	22,5
Fl.-soarelui	Steril	17,3
	Contaminat	38,3

Rezultatele prezentate în tabelul 4 scot în relief în mod pregnant influenţa favorabilă pe care o au microorganismele asupra nutriţiei plantelor, prin solubilizarea unor minerale greu accesibile. R a t n e r (1954) a confirmat, cu ajutorul radioizotopului ^{32}P că în rădăcinile plantelor crescute pe medii contaminate cu microfloră rizosferică se găseşte mai mult fosfor organic decît în rădăcinile plantelor crescute în mediu steril.

Scanned with OKEN Scanner

Roche şi de Barjac (1959) au obţinut noi date care demonstrează justeţea teoriei solubilizării fosfaţilor prin aciditatea produsă de bioxidul de carbon microbian. Sperber (1958) testînd diferite microorganisme izolate din sol şi din rizosfera plantelor a constatat că aceasta este populată în mod constant de microorganisme care solubilizează apatita.

Capacitatea microorganismelor de a sintetiza substanţe biologic active, ca vitamine şi factori de creştere a fost demonstrată de numeroşi cercetători. Astfel Vyas şi Prasad (1956), au pus în evidenţă capacitatea bacteriilor de nodozităţi de a produce vitamina B_{12}. Pochon şi de Barjac (1958) citînd lucrările lui Lochhead şi Thexton, arată că în rizosferă sînt mai multe microorganisme capabile să sintetizeze factori de creştere decît în sol. Rivière (1963) apreciază, în urma determinării făcute, că 19,9% din tulpinile bacteriene izolate din rizosferă, sintetizează fitohormoni. Principalele specii microbiene dotate cu această capacitate sînt: *Pseudomonas sinuosa*, *P. fluorescens*, *P. desmoliticum*, *Bacillus mesentericus flavus* (Hudiakov şi Vozniakovskaia, 1956); Fallot, 1958, 1959).

Rolul sanitar pe care-l joacă microorganismele în rizosfera plantelor este susţinut de numeroase cercetări. Berezova (1950) apreciază aportul deosebit pe care-l au microorganismele în rizosferă prin consumarea substanţelor eliminate de rădăcinile plantelor care ar deveni dăunătoare în situaţia în care s-ar acumula.

7. ULTRAMICROPOPULAŢIA SOLULUI

Pe lîngă micropopulaţie, solul conţine şi o ultramicropopulaţie, (virusuri) a cărei răspîndire a început să fie studiată abia în ultimii ani, odată cu progresele realizate în tehnica microscopiei electronice. Printre virusurile din sol, bacteriofagii sînt cei mai bine studiaţi, în legătură cu posibilităţile lor de a elimina din sol anumite specii de bacterii şi de actinomicete folositoare.

Încă dinaintea ultimului război mondial au fost studiaţi bacteriofagii genului *Rhizobium*, consideraţi ca o cauză importantă în „oboseala solului". În România, au făcut studii sistematice asupra răspîndirii bacteriofagului specific pentru *Azotobacter*, Nestorescu (1967) şi pentru *Rhizobium*, Bălan (1970).

Nestor (1973) constată prezenţa în sol a virusurilor enterice, a căror supravieţuire în acest mediu depinde de factori pedoclimatici, dar mai ales de flora microbiană.

II. PRINCIPII METODOLOGICE DE STUDIERE A MICROORGANISMELOR DIN SOL

1. PRINCIPII GENERALE

Microorganismele din sol au fost în parte izolate şi descrise încă din secolul XIX. Cercetările întreprinse în acea perioadă nu aparţin însă microbiologiei solului, ci relevă doar preocupări de taxonomie bacteriană

sau (în cazul în care există dorința valorificării practice a cunoștințelor obținute) se încadrau în sfera eforturilor făcute pentru profilaxia bolilor infecțioase. Era, în general, ignorat rolul pe care aceste microorganisme îl au în transformarea materiei organice în sol și în afara lui, precum și aportul lor în circulația diferitelor elemente și în nutriția plantelor.

La sfîrșitul secolului XIX apar primele lucrări care aparțin microbiologiei solului. Ele se leagă în special de numele a doi străluciți oameni de știință: Winogradsky și Beijerinck. Winogradsky reușește în 1890 nu numai să izoleze bacteriile care produc nitrificare în sol, ci în același timp să elucideze în mare măsură fiziologia complicată a acestui grup de microorganisme. Cîțiva ani mai tîrziu, izolează și bacteria *Clostridium pasteurianum*, bacil anaerob care fixează energic azotul molecular, în afara oricăror legături de simbioză cu plantele superioare. Deosebita contribuție a lui Winogradsky constă în elaborarea unei metode de cercetare ale cărei principii pot fi regăsite și astăzi la baza celor mai moderne procedee.

Meritele lui Beijerinck sînt legate în primul rînd de izolarea și descrierea bacteriilor care fixează azotul în simbioză cu leguminoasele, precum și bacteriile aerobe fixatoare de azot din genul *Azotobacter*. Nu putem trece însă peste această perioadă fără a aminti de cercetările lui Hellriegel și Wilfarth care au elucidat problema nutriției cu azot a leguminoaselor.

Sub influența acestor idei, punctul de vedere al celor ce studiau micropopulația solului a evoluat, dar metodele de cercetare au rămas aceleași. S-a impus ideea legăturii directe ce există între bogăția unui sol în microorganisme și fertilitatea sa.

Încercările de a stabili astfel de relații au apărut la începutul secolului. Ele s-au soldat însă cu eșecuri (Remy 1902; Löhnis, 1904; 1905; 1907). S-a presupus că eșecul se datorează folosirii unui mediu de cultură impropriu pe care nu toate microorganismele din sol găsesc condiții de dezvoltare. A început atunci căutarea febrilă a unor „medii universale". S-a dovedit însă curînd că nu pot exista astfel de medii, în primul rînd, datorită exigențelor metabolice contradictorii ale diferitelor grupe de microorganisme, ce alcătuiesc micropopulația solului.

Conn (1918) a imaginat o altă cale de a învinge această dificultate: numărarea directă la microscop a bacteriilor din solul dispersat în apă, întins pe o lamă de sticlă și colorat. Folosirea acestei metode a permis lui Winogradsky, în studiile întreprinse începînd din 1924, să diferențieze în sol două categorii de microorganisme: zimogene, ce participă la transformările substanței organice ajunsă în sol și autohtone, care folosesc în metabolism substanțe proprii solului. Winogradsky a stabilit că tocmai microflora autohtonă a solului nu se poate multiplica pe așa-zisele „medii universale". În plus, pe aceste medii nu cresc nici unele grupe foarte importante ce aparțin microflorei zimogene (microorganismele ce descompun celuloza în sol). În aceste condiții, este evident că numărul de bacterii crescute pe acest mediu nu poate fi corelat cu fertilitatea solului din care provine. Caracteristice pentru această perioadă sînt și cercetările ce căutau să stabilească toate funcțiile biologice care concură la fertilitatea solului prin izolarea tuturor speciilor și studierea

Scanned with OKEN Scanner

fiziologiei lor în laborator. Aceasta a constituit o direcţie de cercetare care-şi mai păstrează şi azi adepţi, cu toate că la vremea ei a fost aspru criticată de Winogradsky. Iată ce spune el: „Presupunînd chiar că vom reuşi într-o zi să izolăm totalitatea reprezentanţilor acestei microflore, nu vom ajunge decît la o colecţie de culturi, care nu va putea — chiar completă fiind — să ne înfăţişeze activitatea acestei populaţii în sol, unde funcţiile individuale se asociază sau se contracarează şi unde ambianţa biologică reduce activitatea lor la cu totul altceva decît în cultură pură", iar în continuare: „Metoda de analiză a activităţii reale a microorganismelor în natură trebuie bazată nu pe comportarea speciilor izolate în afara mediului natural, ci pe reacţia întregii comunităţi microbiene în sînul acestui mediu". Acesta este binecunoscutul principiu ecologic al lui Winogradsky, în conformitate cu care studiul microorganismelor din sol nu poate fi întreprins decît în interacţiune cu toată micropopulaţia acestuia, precum şi cu condiţiile fizico-chimice din sol.

În lumina principiilor moderne ale studierii biocenozei, a teoriei informaţiei, punctul de vedere al lui Winogradsky ne apare ca deosebit de actual. În 1971 Saiver reia şi dezvoltă această idee: „se înţelege că studiile asupra modelelor simple, comportînd o singură specie microbiană, nu reflectă comportarea acesteia în sol". În consecinţă autorul recomandă ca aceste studii *autoecologice* să fie întregite de studii *sinecologice* în care specia microbiană este studiată ca o parte a întregii micropopulaţii normale a solului:

În conformitate cu principiul ecologic al lui Winogradsky, Pochon (1954) a fixat următoarele reguli, care trebuie respectate în experienţele de microbiologia solului.

— evitarea culturilor pure;

— utilizarea solului însuşi ca mediu de cultură, a extractului apos sau a unor medii cu însuşiri fizico-chimice cît mai apropiate de ale solului. Punerea în evidenţă a unei anumite funcţii biochimice se va face prin schimbarea condiţiilor, astfel încît să se favorizeze activitatea grupului de microorganisme de care depinde acest proces;

— respectarea pe cît posibil a condiţiilor fizice de umiditate şi de pH din sol. În cazul în care se intenţionează caracterizarea grupelor fiziologice de microorganisme, se va ţine în plus seama ca:

— însămînţarea mediilor de cultură să se facă cu solul ca atare sau diluţia impusă de frecvenţa microorganismelor;

— caracterizarea grupului să se facă pe baza funcţiilor metabolice şi nu pe criterii de morfologie sau toxonomie.

S-au stabilit de asemenea reguli precise care trebuie respectate în experienţe cu microflora solului pentru fiecare etapă de analiză.

2. RECOLTAREA PROBELOR DE SOL

O importanţă deosebită pentru precizia rezultatelor o are modul în care se face recoltarea probelor de sol. S-a demonstrat că limita de precizie a analizelor este dată în primul rînd de modul de recoltare a probei de sol şi în al doilea rînd, de tehnica analitică.

Scanned with OKEN Scanner

La recoltare trebuie avut în vedere în primul rînd faptul cunoscut, că microorganismele nu sînt dispuse uniform în sol. Este vorba atît de o macroheterogenitate, adică neuniformitatea porţiunii de teren pe care se experimentează, cît şi de o microheterogenitate, adică diferenţierea a două puncte din teren, între care distanţa nu depăşeşte cîţiva centimetri. Aceste caracteristici ale distribuţiei microorganismelor în sol impun, de la început, o primă regulă : recoltarea unui număr cît mai mare de probe de sol, repartizate astfel încît să acopere întreaga suprafaţă a terenului pe care dorim să-l caracterizăm.

Multă vreme în microbiologia solului a fost folosită o metodă de recoltare a probelor, preluată din alte domenii de cercetare a solului (chimie, fizică): efectuarea de probe medii prin amestecarea atentă a pămîntului recoltat din cît mai multe puncte. Un neajuns al acestei metode consta în greutatea omogenizării unui număr mare de probe, ceea ce reduce din avantajul probei medii şi o face mai puţin reprezentativă (Jensen, 1963). Un număr mai redus de eşantioane permite să se obţină o probă medie suficient de reprezentativă pentru analizele chimice, dar nu şi pentru cele microbiologice. Zaharcenko (1958) şi Dommergues (1960) consideră că oricîtă atenţie s-ar acorda omogenizării, nu se pot extrage dintr-o probă medie de sol două eşantioane identice. Un alt dezavantaj al folosirii probelor medii de sol este acela că ea nu dă referinţe asupra gradului de identitate dintre probă şi terenul din care provine. Hirte (1965) arată că : „un factor important al insucceselor metodei a fost utilizarea probei medii, care nu reflectă heterogenitatea şi variabilitatea solului, succesul metodei depinde de selecţionarea variaţiilor întîmplătoare de cele produse de factorii de cercetat",

Soluţia este deci, recoltarea unui număr corespunzător de probe-repetiţii, iar rezultatul se obţine făcînd media valorilor acestora. Prin prelucrarea statistică a rezultatelor se pot aprecia limitele între care se încadrează numărul de germeni dintr-un sol şi realitatea diferenţelor obţinute între diferitele variante.

Pentru a se stabili gradul şi tipul de heterogenitate a solului este preferabil ca înaintea fiecărei experienţe să se execute un sondaj. Calculul numărului necesar de repetiţii şi a celui mai avantajos mod de recoltare a lor, poate fi făcut după Snedecor (1957), Dmitriev (1966).

În mod experimental, Waskman a stabilit că un număr de zece repetiţii este întotdeauna satisfăcător. Acelaşi număr de repetiţii este recomandat şi de Wieringa (1958). Krasilnikov (1966) recomandă ca pentru suprafeţele mai mari de un hectar să se ia cinci probe (fiecare din ele provenind din amestecul altor cinci subprobe), iar pentru suprafeţe mai mici de 100 m² — trei probe — fiecare reprezentînd alte trei subprobe omogenizate. Ghinea şi colaboratorii (1965) au găsit că un număr de trei probe — repetiţii în cîmp nu sînt totdeauna suficiente, chiar dacă se experimentează pe microparcele. Sundman (1970) recomandă să se recolteze cinci probe — repetiţii de sol. Pentru o precizie cît mai mare a rezultatelor, trebuie stabilit de la început următoarele situaţii :

— Dacă probele de sol se vor recolta în tot timpul anului, sau într-un anumit anotimp. În cazul în care se urmăreşte influenţa unor factori agrotehnici, recoltarea probelor de sol se va face în dinamică sau

imediat după ce solul a fost afectat de o măsură agrotehnică şi în continuare pînă la restabilirea echilibrului microbian (cazul încorporării în sol a substanţelor fitofarmaceutice).

Caracterizarea microflorei din mai multe tipuri de sol aflate în zone climatice diferite implică aspecte deosebite. În acest caz trebuie stabilit dacă este preferabil să se recolteze probe de sol la aceeaşi dată calendaristică, sau în condiţii climatice comparabile. În luna martie, spre exemplu, cînd la cîmpie este primăvară (umiditate moderată, temperatură în sol în jur de 7—8°C), într-un tip de sol montan se menţine încă o umiditate excesivă şi o temperatură în jur de 0°C. Comparaţia între aceste două soluri se poate face fie recoltînd probe în mod simultan, fie pe probe luate din fiecare sol în parte, cînd temperatura se va stabili la circa 10°C şi umiditatea la cca. 20%.

— Dacă probele se vor recolta cînd solul este uscat sau umed. Experienţe, efectuate de diferiţi autori, au arătat că recoltînd probe cu un grad avansat de umiditate, erorile sporesc de cîteva ori. De aceea este preferabil să se evite astfel de situaţii, ceea ce nu este întotdeauna posibil. În cazul în care se urmăreşte influenţa irigaţiei, este necesar să se ţină seama de dinamica umidităţii solului, iar probele pentru analizele microbiologice trebuie recoltate cît mai repede după udare.

O însemnătate deosebită o are nu numai momentul cînd se recoltează probele de sol, ci şi modul cum sînt recoltate. În special, în cazul în care se urmăreşte stabilirea influenţei factorilor fizici din sol asupra activităţii microbiene, este de cea mai mare importanţă ca solul să fie recoltat în structură naturală (Verona şi Simonard, 1957; Hulpoi şi colab., 1967). Practic acest lucru se poate realiza prin folosirea cilindrilor Nekrasov (aceiaşi ca la determinarea greutăţii volumetrice a solului).

Recoltarea probelor de sol pentru analizele microbiologice să se facă în condiţii aseptice, în vase sau pungi sterilizate, cu linguri, sonde sau cilindri sterilizaţi cu alcool sau prin flambare. Din literatură (Bonnier, 1955; Krasilnikov, 1966), ca şi din practica curentă de laborator reiese însă că respectarea acestei condiţii nu are o importanţă prea mare (numărul de germeni proveniţi prin infecţie este neînsemnat faţă de proporţia numerică a microorganismelor solului). Într-o experienţă efectuată pe un cernoziom moderat levigat, în care recoltarea probelor s-a făcut în trei repetiţii, Eliade şi Ghinea (1965) au arătat că numărul germenilor din solul recoltat steril a fost de 28,3 milioane/g sol, în timp ce în solul recoltat nesteril s-au găsit 27,8 milioane germeni/g de sol.

Totuşi cînd respectarea condiţiilor de sterilitate se poate face cu uşurinţă, este recomandabil să se aplice.

În cazul în care se are în vedere analiza taxonomică a micropopulaţiei solului, trebuie evitate infecţiile cu sol de la o altă variantă. În acest caz pot apare la analiză specii care nu există în varianta cercetată.

Krasilnikov (1966) recomandă ca studiul microflorei să se facă recoltînd probe din fiecare orizont genetic al solului considerat. Fără îndoială că un asemenea mod de recoltare corespunde pe deplin numai pentru caracterizarea tipurilor de sol.

Scanned with OKEN Scanner

În legătură cu perioada de timp scursă de la recoltarea probelor de sol la prelucrarea lor, Jensen (1963) arată că : „ar fi desigur mult mai bine ca analiza să înceapă imediat după recoltare. Acest lucru nu este însă posibil decît dacă suprafaţa de pe care se recoltează solul este în apropierea laboratorului. Pe măsura lungirii timpului de păstrare a probelor înainte de prelucrare, survin modificări cantitative şi calitative tot mai importante, iar rezultatele sînt din ce în ce mai puţin asigurate statistic. Cele mai bune rezultate se obţin cînd prelucrarea probelor survine în primele şase ore de la recoltare (James şi Sutherland, 1939). La concluzii similare ajunge şi Krasilnikov (1966).

În cazul în care nu e posibilă prelucrarea imediată a probelor, temperatura de păstrare are o importanţă deosebită. Astfel, în probele de sol păstrate la 10—15°C numărul de bacterii creşte la început de 3—4 ori, apoi începe să scadă, astfel că în 10—14 zile ajunge la nivelul iniţial (Golebiovska, 1957).

Păstrarea solului în stare uscată afectează microflora atît din punct de vedere cantitativ, cît şi calitativ (Jensen, 1963; Clark, 1965; Lisina şi Kulik, 1970). Diferitele specii de bacterii, chiar şi cele sporogene au rezistenţă foarte diferită la uscare. Krasilnikov (1958) arată că prin uscare *Bacillus megaterium* piere în proporţie de 80—90%, în timp ce *Bacillus mesentericus* numai în proporţie de 30—40%. De aceea păstrarea solului uscat în vederea analizei taxonomice nu e indicată.

Timpul şi mediul de păstrare a probei de sol în laborator trebuie hotărît în funcţie de scopul cercetării (Ziemiecka, 1957). Solul păstrat în laborator poate servi la „modelarea" anumitor procese care au loc sub influenţa factorilor naturali. Pe principiul „modelării" se bazează metode cu largă aplicabilitate în microbiologia solului determinarea respiraţiei, a capacităţii de nitrificare etc.

3. ANALIZA MICROFLOREI TOTALE A SOLULUI

3.1. ANALIZA PROBELOR DE SOL PRIN MICROSCOPIE DIRECTĂ

a. **Metode care nu necesită suspensii-diluţii.** Prelucrarea probelor de sol se poate face, fie prin observarea directă a germenilor sub microscop, fie prin numărarea lor (pe medii de cultură), fie prin aprecierea activităţii pe care aceştia o desfăşoară.

Cea mai simplă metodă de examinare directă o constituie aşa-numita metodă Rossi-Holodnîi, care constă într-o simplă implantare a lamelor de microscop perpendicular în sol, la adîncimea dorită. După ce lamele se lasă în sol un timp variabil, ele se scot, se fixează şi se colorează cu coloranţi acizi (de obicei eritrozină). Este evident că metoda poate fi aplicată direct în cîmp sau pe modele. Millar şi Casida (1970) recomandă colorarea cu rodamină marcată cu lizozim, contrastarea cu gelatină marcată cu fluoresceină şi examinarea în lumină fluorescentă.

Principalul avantaj al metodei Holodnîi îl reprezintă posibilitatea de a aprecia răspîndirea naturală a microorganismelor în sol, cenozele în care este organizată micropopulaţia acestuia. Are, aşa după cum s-a subliniat de către diferiţi cercetători, valoarea unui „instantaneu fotografic".

Metoda nu permite însă nici un fel de aprecieri cantitative, iar introducerea lamei în sol modifică spaţiile dintre particulele acestuia, ceea ce influenţează circulaţia aerului şi a apei. Trebuie arătat că în sol microorganismele se dezvoltă la suprafaţa particulelor organominerale, folosind în metabolism atît substanţele nutritive din soluţia solului, cît şi materia organică din particulele solului. De aceea dezvoltarea lor pe lamele de sticlă nu poate fi identică cu cea de pe suprafaţa agregatelor de sol.

În plus metoda mai prezintă şi alte dezavantaje, proprii tuturor tehnicilor de microscopie directă şi anume:

— nu diferenţiază germenii vii de cei morţi;

— nu diferenţiază decît în mică măsură bacteriile, de fragmentele inerte din preparat, care ca formă şi dimensiuni sînt asemănătoare acestora;

— examenul microscopic presupune cercetarea unui număr mare de cîmpuri microscopice, ceea ce face metoda deosebit de laborioasă.

Totuşi, datorită avantajelor sale, mult timp metoda a fost intens folosită, diferiţi autori căutînd s-o perfecţioneze sau să o adapteze la studiul anumitor grupe de microorganisme din sol.

Prima dată Kubiena (1938) a reuşit cu ajutorul unui microscop de construcţie specială să examineze microorganismele direct pe suprafaţa monoliţilor de sol. El a studiat în special ciupercile şi protozoarele, deoarece puterea de mărire a microscopului nu i-a permis aprecieri asupra bacteriilor.

Utilizarea microscopiei fluorescente în lumină reflectată (Z v i a g h i n t e v, 1966), a permis extinderea limitei de mărire şi examinarea asociaţiilor microbiene în condiţii naturale.

În ultima vreme a început a fi aplicată la studiul microorganismelor din sol, microscopia electronică. În acest scop se foloseşte atît examenul direct al unei suspensii de sol în apă, cît şi procedeul metalizării. Cu ajutorul acestui procedeu s-au putut pune în evidenţă forme microbiene noi. Dezavantajele sînt legate atît de faptul că se lucrează cu material mort, deci imposibil de verificat în ceea ce priveşte funcţiile sale în sol (adesea nu se poate face nici măcar proba că formaţiile găsite aparţin sau nu lumii vii), cît şi tehnicii de preparare a lichidului examinat care pune în evidenţă numai formele cele mai puţin legate de particulele de sol (restul germenilor rămîn ataşaţi de particulele de sol, mai grosiere sau mai fine, eliminate succesiv în cursul clarificării).

În dorinţa de a respecta cît mai mult condiţiile fizice naturale din sol, P e r f i l i e v şi G a b e (1961) propun metoda capilarelor (a „pedoscopului capilar"). Pornind de la constatarea că, în sol, viaţa microorganismelor se desfăşoară, de regulă, în spaţii capilare, pe pereţii cărora ele sînt adsorbite, autorii propun ca în locul lamelor de sticlă, în sol să fie implantate capilare. După un timp variabil, acestea se scot şi se examinează la microscop, fie direct, fie după fixare cu vapori de acid osmic

Scanned with OKEN Scanner

şi colorare cu eritrozină. Prin folosirea acestor metode sînt înlăturate numai în parte neajunsurile metodei Rossi-Holodnîi şi anume cele privitoare la modificarea regimului aerului şi soluţiei nutritive în sol. Principala deficienţă a acestei metode constă în modificarea condiţiilor de nutriţie ale microorganismelor, ca urmare a substituirii agregatelor organo-minerale, cu pereţii de sticlă ai capilarelor. Aristovskaia (1961) a propus înlăturarea acestui neajuns prin acoperirea pereţilor interiori ai capilarelor cu medii nutritive, conţinînd o fracţie sau alta a substanţelor humice extrase din solul de studiat.

O altă categorie de metode se bazează pe examenul microscopic direct al solului. Este vorba de metodele ce au la bază realizarea secţiunilor de sol şi examinarea lor la microscop. Primele secţiuni în sol în vederea studierii microflorei sale au fost realizate de către Kubiena (1938). Metoda a fost reluată de către Burges şi Nicholas (1961) şi îmbunătăţită de Jones şi Grifiths (1964), care au examinat pentru prima dată, la microscop, secţiuni colorate.

Pentru secţiuni subţiri, solul se recoltează în blocuri de $10 \times 10 \times 2$ cm şi se transportă în laborator cît mai repede pentru a-l feri de uscare sau alte procese care pot antrena schimbări biologice. În laborator blocurile se răcesc în azot lichid şi se usucă la vid. Apoi blocul de sol se impregnează cu o soluţie de răşini sintetice. După răcire, se taie în secţiuni cu ajutorul unui cuţit de diamant. Secţiunea, astfel obţinută, se pune pe lamă, se colorează şi se examinează la microscop.

O altă categorie de metode se bazează pe dozarea în sol a unor componenţi specific microbieni. Pe baza bogăţiei solului în astfel de substanţe se trage concluzia asupra frecvenţei în sol a microorganismelor. Astfel de substanţe ar putea fi acizii teicoici, acidul pimelic, acidul muramic (Millar şi Casida, 1970).

Mai potrivită pare determinarea ATP, deoarece acesta se găseşte exclusiv în celule microbiene vii. Metoda aprecierii numărului de microorganisme active, pe baza cantităţii de ATP, a fost reintrodusă de Lee şi colab. (1971) pentru sedimente lacustre şi adaptată de Beverly (1972) la studiul solului.

b. **Metode de analiză bazate pe suspensii-diluţii.** Studiul microflorei solului prin microscopie directă, folosind pentru prima dată o suspensie-diluţie, a fost realizat în 1918 de Conn. Metoda actuală aparţine lui Jones şi Mollison (1948). Ea constă în suspendarea unei cantităţi cunoscute de sol într-o cantitate de asemenea cunoscută de apă şi diluarea suspensiei obţinute pînă la o densitate convenabilă de germeni. Se ia apoi din diluţia finală un aliquot, cu care se acoperă o anumită suprafaţă a lamei de sticlă. Preparatul astfel obţinut, se colorează cu eritrozină şi se examinează la microscop. Cunoscîndu-se suprafaţa preparatului, mărimea părţii aliquote şi a diluţiei, se poate stabili numărul de germeni din solul considerat. Erorile metodei care variază între 11—28%, se datoresc unor cauze complexe.

Pe lîngă deficienţele proprii tuturor metodelor bazate pe microscopia directă a solului, la această metodă se adaugă şi dificultăţile legate de folosirea suspensiilor-diluţii. În afara condiţiei obligatorii ca proba de sol să fie reprezentativă, condiţie discutată anterior, ea mai trebuie să fie

Scanned with OKEN Scanner

suficient de mare. Diferite tehnici recomandă să se pornească la efectuarea suspensiilor-diluţii fie cu un gram sol, fie cu 10 grame. Pentru un cernoziom mediu levigat, Eliade şi Ghinea (1965) au obţinut rezultate bune folosind 40 grame de sol de fiecare probă.

S-a observat încă de multă vreme că suspensia-diluţie nu este o simplă diviziune a probei de sol în cantităţi mereu mai mici, ci un proces cu mult mai complex. Are loc în primul rînd un proces de segregare care constă în depunerea particulelor de sol aflate în suspensie (în primul rînd cele grosiere, apoi cele fine, pînă la mîl). Diluarea unei suspensii de sol este o disociere în raport cu microstructura lui. Disocierea este în funcţie de forţa de coeziune a microorganismelor. În general, disocierea creşte proporţional cu diluţia, astfel că un agregat care a trecut nemodificat prin 2—3 diluţii, antrenînd cu el germenii adsorbiţi, se poate dezintegra în a patra diluţie, mărind brusc numărul de germeni liberi.

Efectul segregării scade atunci cînd proba de sol este mojarată înainte de efectuarea suspensiei (Jensen, 1963). În analize de serie nu este totuşi un procedeu indicat, deoarece este laborios (Babiuc şi Paul, 1970). Tot în vederea înlăturării efectului segregării necontrolate, se propune agitarea prealabilă a suspensiilor-diluţii fie mecanic (Whitless, 1923; Wasksman, 1932; Johnston, 1959), fie magnetic (Hill şi Gray, 1966). Eliade şi Ghinea (1965) au pus în evidenţă pentru acelaşi sol un număr total de germeni de 61,9 milioane la gram de sol, atunci cînd agitarea s-a făcut mecanic şi 41,2 milioane cînd agitarea s-a făcut magnetic. S-a mai folosit cu rezultate neconcludente şi omogenizarea cu ultrasunete (Whitless, 1923; Stevenson, 1958).

Toate metodele de agitare descrise au două caracteristici comune: omogenizarea suspensiei de sol pe de o parte, iar pe de altă parte distrugerea parţială a microorganismelor (Jensen, 1963). De aceea timpul de agitare al unei probe de sol trebuie să fie exact cel necesar omogenizării. Dacă agitarea se prelungeşte are loc distrugerea masivă a celulelor microbiene. În această direcţie Jensen (1963) recomandă o agitare de 10 minute. Eliade şi Ghinea (1965) au obţinut rezultate bune prin agitarea solului timp de 20 minute.

O sursă de erori o constituie şi procedeul prin care se execută suspensiile-diluţii. În practica curentă de laborator se adaugă solul peste un volum fix de lichid. Mai corect ar fi ca peste sol să se adauge lichid pînă la un volum fix, aşa cum se procedează la efectuarea soluţiilor titrate în chimia analitică. Erorile pot fi apreciabile în cazul în care se lucrează cu soluri diferite. Lucrînd pe acelaşi tip de sol se poate, fără îndoială, aplica primul procedeu, mult mai simplu şi mai puţin expus riscului infectării.

O problemă importantă este şi cea a raportului între cantitatea de sol şi cea de lichid dispersant. În literatură se recomandă atît raportul 1/100, cît şi cel de 1/10. Lavergne şi Augier (1955) au dovedit că gradul de asigurare al rezultatelor obţinute creşte cu scăderea raportului sol/lichid dispersant. După aceşti autori raportul de 1/4 este cel mai indicat.

Rezultatele nesatisfăcătoare obţinută cu mijloace mecanice de omogenizare a suspensiilor-diluţii au făcut ca atenţia cercetătorilor să se îndrepte spre mediul însuşi de dispersie. Încercările de a folosi apa de conductă

Scanned with OKEN Scanner

în acest scop nu au fost satisfăcătoare, întrucît aceasta avînd un conţinut scăzut de electroliţi, provoacă o dispersie continuă a particulelor de sol. În primele diluţii stabilitatea agregatelor este favorizată de faptul că din cantitatea mare de sol trece în apă o cantitate apreciabilă de electroliţi, ceea ce nu se mai întîmplă în diluţiile următoare. În aceste diluţii agregatele de sol se dispersează fiind supuse la solicitări mult mai mari.

S-a demonstrat că şi apa distilată are aceleaşi defecte ca apa de conductă, fiind în plus hipotonică şi deci într-o oarecare măsură bactericidă (W i l s o n, 1923).

Astăzi sînt foarte răspîndite soluţiile dispersante ce conţin ioni monovalenţi (în special sodiu).

D o m m e r g u e s (1956) recomandă în această direcţie o soluţie de pirofosfat de sodiu, cu care a obţinut rezultate bune. Calitatea pirofosfatului de sodiu ca mediu de dispersie este recomandată şi de cercetările lui J e n s e n (1963) care a demonstrat că la intervale prelungite de păstrare, titrul germenilor scade mult în apă de conductă şi foarte puţin în soluţie de pirofosfat.

Problema capacităţii dispersante şi a posibilităţii de a păstra viabilitatea germenilor, în soluţia de pirofosfat, de sodiu, a fost reluată de E l i a d e şi G h i n e a (1965). Autorii au urmărit aceste două aspecte pe un sol de tip cernoziom mediu levigat. Primul aspect s-a urmărit prin numărarea coloniilor crescute pe mediu cu extract de sol, iar cel de al doilea prin determinarea respiraţiei unei suspensii de sol la aparatul Warburg. Rezultatele expuse în tabelul 5 demonstrează convingător atît capacitatea dispersantă a pirofosfatului de sodiu, cît şi posibilitatea lui de a păstra viabilitatea microorganismelor din sol.

Tabelul 5

Valoarea dispersantă a sărurilor de sodiu (după E l i a d e şi G h i n e a, 1965)

Substanţa	Nr. germeni (milioane la g sol)	Respiraţia (μl O_2 consumat/oră)
Pirofosfat de Na 0,1%	91,3	307
Pirofosfat de Na 0,2%	93,1	291
Piruvat de Na 0,1%	86,2	224
Tartrat de Na 0,1%	80,8	268
Tartrat de Na şi K 0,1%	76,5	257
Citrat de Na 0,2%	78,1	215
Apă de conductă	70,3	291

Dintre substanţele utilizate, sărurile de sodiu ale acidului piruvic şi citric s-au dovedit cele mai toxice. Respiraţia solului suspendat în aceşti dispersanţi a scăzut de la 291 μl/h, pentru soluţia martor de pirofosfat de sodiu, la 215 şi respectiv 224 μl/h oxigen consumat. În cazul tartraţilor, sarea de sodiu a avut o acţiune toxică mai puternică, dar şi acţiune dispersantă mai pronunţată. Se poate remarca la toate substanţele (cu excepţia pirofosfatului) o oarecare acţiune toxică, compensată însă de capacitatea dispersantă.

Scanned with OKEN Scanner

Acţiunea pirofosfatului de sodiu pare a fi cu deosebire favorabilă în solurile alcaline şi neutre, bogate în humus. În solurile acide rezultate mai bune se obţin cu soluţia Winogradsky (Jensen, 1963; Eliade şi colab., 1966).

Augier şi Lavergne (1958) recomandă acţiunea combinată a pirofosfatului şi apei distilate. În acest scop, prima diluţie urmează a se face în soluţie de pirofosfat de sodiu, iar următoarele, în apă distilată.

Merită a fi în plus menţionată recomandarea făcută de Hirte (1965) privind folosirea substanţelor emulsionante pe bază de acizi graşi arătînd că rezultatele sînt mereu mai bune pe măsură ce creşte complexitatea moleculei acestor substanţe. Rezultatele cele mai bune se obţin cu Tween 80. Zviaghinţev (1966) recomandă ca mediu de dispersie alcool alkil sulfat în concentraţie de 0,1 — 0,3%. În acest caz, efectul favorabil al dispersantului scade cu umiditatea solului.

În timpul efectuării diluţiilor o importantă sursă de erori o reprezintă proprietatea complexelor argilo-humice, care au adsorbite pe ele microorganisme, de a adera la pereţii de sticlă cu care vin în contact, în primul rînd ai pipetelor cu care se efectuează diluţiile. Această proprietate diferă în funcţie de tipul de sol analizat. Efectul este maxim pentru solurile calcaroase (Lavergne şi Augier, 1955). Efectul de antrenare depinde şi de lichidul dispersant, fiind mai mare pentru soluţia izotonică cloruro-sodică decît pentru pirofosfat (Ploaie şi Ghinea, 1960).

Erorile cauzate de efectul de antrenare sînt foarte mari. Krasilnikov (1958), lucrînd o probă de sol cu şi fără schimbarea pipetei la fiecare diluţie, găseşte 22,8 milioane de germeni la un gram de sol în cazul schimbării pipetei la fiecare diluţie şi respectiv cca 100 milioane germeni, atunci cînd toate diluţiile s-au executat cu aceeaşi pipetă.

Lavergne şi Augier (1955), lucrînd o probă de sol cu şi fără schimbarea pipetei, calculează un „coeficient de retenţie", în care, se exprimă efectul de antrenare în raport de suprafaţa pereţilor pipetei şi volumul său. Acest raport scade pe măsura creşterii volumului pipetei. De aceea, în experienţele lui Jensen (1963), erorile au fost de 7% în cazul folosirii pipetelor de 5 ml şi de 12% în cazul pipetelor de 1 ml.

Pentru a evita reţinerea pe pereţii pipetei, Pochon şi colab. (1957) recomandă ca vîrful acesteia să nu se introducă mai mult de 0,5 cm în suspensie. Este recomandabil de asemenea să se pipeteze în aşa fel, încît nivelul lichidului să nu depăşească mai mult de 0,5 cm cota pipetei. Tot în acest scop Jensen (1963) recomandă să se tragă de 2—3 ori suspensia în pipetă înainte de pipetarea propriu-zisă.

Totuşi, oricîte precauţii s-ar lua, în timpul pipetării diluţiilor se fac cele mai mari erori din cursul analizării microflorei solului. Ca urmare a acestui fapt, are loc o scădere neproporţională a numărului de germeni pe gama de diluţii. Dacă de exemplu la diluţia 10^{-5} g/ml se vor găsi 100 germeni, la diluţii 10^{-6}, numărul lor va fi diferit de cifra teoretic aşteptată (10). El va fi de regulă mai mare. Dacă se reprezintă acest fenomen grafic, se constată că în cazul unei scăderi proporţionale cu diluţia, dreapta ce reprezintă numărul de germeni formează cu orizontala un unghi de 45°. În cazul în care are loc o scădere neproporţională, aşa cum s-a arătat mai sus, dreapta va forma cu orizontala un unghi mai mic de 45°.

Scanned with OKEN Scanner

Acest fenomen a căpătat de aceea denumirea de „tendința de orizontalizare" a curbei numărului de germeni" (Lavergne, 1954; Meiklejohn, 1957).

Numărul de germeni aflați în suspensia-diluție se poate determina fie prin numărarea directă sub microscop, fie după prealabila cultivare pe medii nutritive.

O deficiență de prim ordin a metodei de numărare sub microscop constă, după cum s-a arătat, în nediferențierea germenilor vii de cei morți. Pentru a depăși acest neajuns, s-a propus folosirea microscopiei în contrast de fază sau a microscopiei fluorescente.

Metodele de analiză a solului nu sînt indicate pentru studii taxonomice. Krasilnikov (1958) arată că numărul mare de coci găsiți de Winogradsky în sol și considerați de el ca aparținînd microflorei autohtone, ar fi mai degrabă forme cocoide ale micobacteriilor, corinebacteriilor, actinomicetelor și bacteriilor sporulate.

Determinarea speciilor de microorganisme este totuși posibilă prin folosirea tehnicilor de imunofluorescență. În acest caz, colorarea suspensiei-diluții de sol nu se mai face cu fluorocrom simplu, ci cu fluorocrom fixat pe un anticorp specific unor anumite microorganisme din sol. În acest fel nu se determină decît reprezentanții unei singure specii de microorganisme. Pentru a determina și alte specii sînt necesare lame separate pentru fiecare specie bacteriană, fungică etc. Volumul de muncă devine astfel enorm, dacă se are în vedere și munca depusă pentru prepararea anticorpilor. Metoda imunofluorescenței a fost aplicată studiilor de microbiologia solului de către cercetătorii germani (Schmidt și Bankole, 1962; Unger și Wagner, 1964), iar la noi în țară de către Zarnea și colab. (1966).

3.2. ANALIZA PROBELOR DE SOL PRIN METODE INDIRECTE

După efectuarea suspensiilor-diluții, determinarea numărului de germeni se poate face și prin însămînțarea diluției finale pe medii de cultură și numărarea coloniilor obținute (metodă introdusă în 1882 de Koch). În acest caz, precizia determinării depinde în largă măsură de mediul de cultură folosit.

Ipoteza primară în metoda plăcilor este că fiecare microorganism prezent în suspensia de sol însămînțat pe un mediu de cultură, se dezvoltă într-o colonie vizibilă. Principala insuficiență a metodei constă în faptul că nu fiecare celulă microbiană din suspensia de sol este capabilă să crească în mediul de cultură, ci numai acelea cu un anumit grad de viabilitate. În plus, trebuie avut în vedere faptul că nici un mediu de cultură nu permite creșterea tuturor speciilor de microorganisme.

Se cunosc obiecțiile lui Winogradsky față de medii de cultură de tipul gelatinei sau al bulionului de carne. Într-o intervenție făcută la al VIII-lea Congres de știința solului (București, 1964), Harmsen reia teza lui Winogradsky, arătînd că folosirea bulionului de carne trebuie evitată, cu precădere în analizele taxonomice, întrucît alterează raporturile reale existente în sol între speciile de microorganisme.

Scanned with OKEN Scanner

Pe bulionul de carne nu pot creşte decît circa 10% din microorganismele care găsesc condiţii de dezvoltare pe extract de sol (Chalvignac, 1957). Acest fapt se datoreşte prezenţei în bulionul de carne a unor factori toxici pentru microflora solului. Bulionul este toxic şi în amestec cu alte ingrediente, dacă proporţia lui se apropie de 50.

Rezultate mai bune au dat mediile semisintetice: mediul Thornton, mediu Wieringa, mediul Hirte. Rezultate foarte bune se obţin cu mediul Waksman. Mediul Topping permite o diferenţiere netă a coloniilor aparţinînd diferitelor specii microbiene (Missirliu şi colab. 1964).

Krasilnikov (1958) sugerează ca studiul bacteriilor să se facă concomitent, pe mai multe medii, deoarece pe fiecare se selecţionează un anumit grup de microorganisme: pe bulionul de carne agarizat predomină metatrofele (caracteristice solurilor fertile), pe mediu Czapek — prototrofele — iar pe mediul Ashby — microorganismele fixatoare de azot şi germenii oligo-nitrofili.

Lucrările lui Lochhead au îndreptat atenţia cercetătorilor asupra extractului de sol, mediu folosit încă de la începuturile microbiologiei solului. Cercetările lui Fisher (1910), Waksman şi Fred (1922), Smith şi Worden (1925), Taylor (1936), Lochhead şi Burton (1956), au arătat că numai 20% din bacteriile ce cresc pe extract de sol pot creşte şi pe bulion agarizat la care nu s-au adăugat şi factori de creştere (tiamină, biotină, vitamina B_{12} etc.). Esenţialul în lucrările lui Lochhead îl constituie faptul că a demonstrat calitatea extractului de sol ca fiind cel mai ecologic mediu cu putinţă. El permite creşterea celui mai mare număr de bacterii din sol, printre care sînt reprezentate toate grupele fiziologice de microorganisme, cu excepţia microorganismelor obligat anaerobe şi a celor cu o nutriţie strict specializată (nitrificatori, microorganisme celulolitice). Superioritatea extractului de sol se datoreşte unui factor de creştere special, denumit „factor terregen" în a cărui compoziţie intră vitamina B_{12} şi heminele, precum şi o serie de factori de natură humică, greu de încadrat între factorii de creştere cunoscuţi, dar absolut necesari unor microorganisme din sol. Condiţia esenţială pe care trebuie s-o îndeplinească un mediu de cultură este aceea de a fi sărac în material energetic, pentru a nu permite unui număr restrîns de specii să le domine pe celelalte. Din acest punct de vedere, după cum afirmă Clark (1965), „numai un singur mediu, adică extractul de sol, este potrivit pentru numărătoare prin metoda plăcilor".

Jensen (1963) este de părere că extractul de sol constituie mediul care corespunde cel mai bine condiţiilor cerute unui mediu de cultură pentru studiile de microbiologia solului datorită următoarelor atribute:

— universalitate (pentru bacteriile din sol);
— selectivitate;
— nu permite creşterea invadantă a coloniilor.

Wieringa (1958) şi Ejdel şi colab. (1960) au obiectat acestui mediu compoziţia chimică nedefinită, valoarea nutritivă a extractului diferind de la sol la sol, sau în cadrul aceluiaşi tip de sol, de perioada din an în care el se prepară.

Scanned with OKEN Scanner

Unii autori au preconizat utilizarea de medii complexe, la care extractul de sol să fie principalul ingredient. Un astfel de mediu ar fi mai puţin variabil sub raportul compoziţiei chimice, decît extractul ca atare.

Harmsen şi Verwel (1937) au arătat că mici cantităţi de extract de sol ameliorează mediile minerale. În această direcţie Jensen (1963) a demonstrat că prin adăugarea unor cantităţi mici de extract de sol, mediul Thornton, capătă proprietăţi superioare. Totuşi, în ciuda criticilor aduse cu precădere la compoziţia sa chimică nedefinită, folosirea extractului de sol ca atare este mult răspîndită astăzi. Pochon (1954) arată că folosind întotdeauna acelaşi sol fertil, variaţiile valorii nutritive a extractului preparat din el, sînt mici.

Eliade şi Ştefanic (1965) au studiat modul în care variază rezultatele obţinute la analizele microbiologice, în funcţie de tipul de sol şi perioada de preparare a extractului. Cercetările au arătat că valoarea extractului este în mare măsură legată de variaţia sezonieră. Principala concluzie care se desprinde din aceste cercetări se referă la calitatea de mediu ecologic a extractului de sol. Este cunoscut faptul că valoarea unui mediu ecologic constă în posibilităţile pe care acesta le are de a pune la dispoziţia microorganismelor elemente nutritive pe care ele le găsesc în mediul natural de viaţă. Este foarte probabil, şi în parte demonstrat, că dinamica sezonieră a microorganismelor este determinată de variaţii corespnzătoare în compoziţia chimică a soluţiei solului. Din acest punct de vedere, condiţii ecologice reprezentative pot fi oferite numai de soluţia solului recoltat în momentul analizei. Prin folosirea unui extract preparat cu mult înaintea analizei, este posibil ca o parte a acestor condiţii să nu fie respectate. De aceea în analizele periodice asupra microflorei solului, mediul cel mai corespunzător este reprezentat de extractul preparat din acelaşi sol în momentul corespunzător analizei. Sub acest aspect, departe de a constitui o deficienţă, variaţia compoziţiei extractului de sol devine o calitate a sa.

a. **Mediul de cultură şi mediul dispersant.** Cercetările efectuate de Eliade şi colaboratorii (1966) au arătat că nu se poate face alegerea mediului de cultură pentru analiza microflorei solului, fără a se ţine seama de mediul de dispersie folosit. Întotdeauna deci, soluţia cea mai bună va fi dată de alegerea perechii optime „mediu-dispersant". Într-o primă experienţă autorii au analizat ca medii de dispersie apa de conductă şi pirofosfatul de sodiu 0,1%. Ca medii de cultură s-au folosit mediile Thornton, Waksman, extract de sol simplu şi extract de sol +bulion (în proporţia 1/8). Calculul varianţei a scos în evidenţă valoarea perechilor extract de sol-pirofosfat şi mediu Waksman-pirofosfat, care dau rezultate superioare (foarte bine asigurate) faţă de toate celelalte combinaţii.

Într-o a doua experienţă, s-au folosit trei medii de dispersie: apa de conductă (în două variante: cu conţinut natural ridicat de săruri şi cu conţinut scăzut de săruri) şi pirofosfat de sodiu 0,1%, precum şi trei medii de cultură: bulion de carne agarizat, mediu Topping şi extract de sol. Rezultatele obţinute sînt date în tabelul 6.

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 6

Influenţa mediului de cultură şi a dispersantului asupra numărului total de microorganisme, milioane la g sol (E l i a d e şi colab., 1966)

Dispersantul	Sol brun-roşcat de pădure		Sol cernoziom		Podzol cu textură nisipoasă	
	număr de germeni	coeficient variaţie	număr de germeni	coeficient variaţie	număr de germeni	coeficient variaţie
Bulion de carne						
Apă distilată	53,0	24,0	33,5	30,2	20,0	30,8
Apă de conductă I	32,5	24,6	34,1	26,8	47,0	46,5
Apă de conductă II	61,0	25,4	43,6	29,0	35,8	45,5
Pirofosfat de Na 1%	86,0	19,7	73,6	25,3	41,2	24,1
Soluţia Winogradski	62,1	18,4	32,4	34,3	51,4	52,4
Mediu Topping						
Apă distilată	66,7	23,0	75,2	18,3	80,8	54,3
Apă de conductă I	66,0	22,9	56,4	31,9	93,6	33,9
Apă de conductă II	61,0	26,0	116,8	42,8	41,4	67,8
Pirofosfat de Na 1%	87,4	26,0	69,2	39,1	120,0	27,9
Soluţie Winogradski	59,6	27,0	83,6	32,3	93,8	21,9
Mediu cu extract de sol						
Apă distilată	83,1	9,9	135,1	14,6	102,2	2,7
Apă de conductă I	89,0	8,3	102,1	9,0	124,8	18,1
Apă de conductă II	82,6	4,2	134,4	7,8	101,2	9,8
Pirofosfat de Na 1%	124,6	4,8	160,5	6,2	188,4	12,7
Soluţie Winogradski	105,8	7,8	103,6	4,6	146,4	12,2

Pentru două soluri (cernoziom moderat levigat şi podzol), a existat o interacţiune semnificativă între mediul de cultură şi mediul de dispersie (fiecare din cei doi factori luaţi separat a influenţat foarte semnificativ). Pentru solul brun roşcat de pădure, ambii factori consideraţi au influenţat foarte semnificativ rezultatul analizei dar între ei nu a existat interacţiune semnificativă.

Factorul care a influenţat cel mai mult rezultatele a fost mediul de cultură, numărul coloniilor capabile să se dezvolte pe extract de sol fiind considerabil mai mare decît în cazul celorlalte două medii. Coeficientul de variaţie arată că şi eroarea experimentală cea mai mică se obţine folosind ca mediu de cultură tot extractul de sol. Pentru celelalte medii, erorile sînt de 2—3 ori mai mari.

Dintre mediile de dispersie, rezultatele cele mai bune le dă soluţia de pirofosfat de sodiu. Între celelalte medii de dispersie folosite, diferenţele nu sînt de obicei asigurate. Excepţie face din acest punct de vedere

podzolul nisipos, pe care rezultatele obţinute cu pirofosfat sau cu soluţie standard Winogradsky au fost aproximativ la fel de bune. Aceasta demonstrează că în cazul solurilor cu textură uşoară nu se pun probleme deosebite de omogenizare. Reacţia solului fiind acidă, probabil că păstrarea viabilităţii germenilor în suspensia de sol este o condiţie mult mai dificilă, pe care soluţia Winogradsky o îndeplineşte în mare parte.

Într-o a treia serie de experienţe, pentru un sol de tip cernoziom moderat levigat, au fost cercetate ca medii de cultură extractul de sol, mediul Waksman şi mediul Hirte, iar ca medii de dispersie substanţe emulsionante pe bază de acizi graşi la un grad diferit de polimerizare (Tween 20 şi Tween 80), comparativ cu soluţia de pirofosfat de sodiu. Rezultatele sînt expuse în tabelul 7.

Tabelul 7

Numărul total de microorganisme (milioane la g sol) în funcţie de mediul de cultură şi mediul de dispersie (după E l i a d e şi colab., 1966)

Mediul cultură	Mediu de dispersie		
	Pirofosfat de Na 0,1%	Tween 20	Tween 80
Extract de sol	54,1	31,9	31,6
Mediul Waksman	52,8	39,7	39,8
Mediul Hirte	33,3	28,1	28,9

Rezultatele obţinute cu pirofosfat de sodiu au fost mai bune decît cele cu substanţe emulsionante. Folosirea substanţelor emulsionante mai are în plus dezavantajul că măreşte şi erorile la pipetare.

Între mediul extract de sol şi mediul Waksman nu au existat diferenţe asigurate. Mediul Hirte însă a dat rezultate slabe, mai ales în cazul folosirii ca dispersant a pirofosfatului de sodiu.

În fine, alte rezultate demonstrează că adaosul de 0,2% extract de carne şi mai ales 0,1% extract de drojdie măresc în oarecare măsură universalitatea extractului de sol. În cazul cernoziomului mediu levigat, numărul de germeni obţinut la analiză a fost de 47,1 milioane germeni la 1 g sol pentru extractul neadiţionat şi respectiv 51,0 şi 56,5 pentru celelalte două cazuri.

În numeroase cazuri s-a optat pentru aprecierea cantitativă a microorganismelor pe medii lichide (P o c h o n, 1954; S t r u n j a k, 1959) cu determinarea numărului de germeni după tabelele M c C r a d y sau F i s h e r. Avantajele ar fi legate de posibilitatea creşterii pe medii lichide a unui număr mai mare de microorganisme şi de evitarea efectului de „orizontalizare" a curbei de care s-a vorbit mai sus. În realitate însă, după cum s-a arătat mai sus „efectul de orizontalizare" a curbelor nu este legat de consistenţa mediului folosit, ci de tehnica imperfectă de preparare a suspensiilor-diluţii. În cazul utilizării mediilor lichide" efectul de orizontalizare" se exprimă prin rezultate paradoxale: la diluţii mai avansate (de exemplu 1 g sol la 1 000 000 ml dispersant) se obţin mai

mulţi germeni decît la diluţii mici (de exemplu 1 g de sol la 10.000 ml dispersant).

Alexander (1965) recomandă ca în cazul în care se foloseşte metoda de apreciere cantitativă pe medii lichide, numărul de germeni să fie calculat după formula Halvorson şi Ziegler (1933):

$$a_1n_1 + a_2n_2 + a_3n_3 = \frac{a_1p_1}{1-e^{a_1x}} - + \frac{a_2p_2}{1-e^{a_2x}} + \frac{a_3p_3}{1-e^{a_3x}}$$

în care:

1, 2 şi 3 sînt trei diluţii succesive;

a_1, a_2 şi a_3 — cantităţile absolute sau relative de sol din fiecare diluţie;

n_1, n_2 şi n_3 — numărul de tuburi inoculate;

e este baza logaritmilor naturali;

p_1, p_2 şi p_3 este numărul de tuburi în care au crescut germeni, iar x este numărul cel mai probabil dc germeni în inoculul de la diluţia 2.

Majoritatea cercetătorilor preferă mediile de cultură solide, deoarece „metoda plăcilor, oricît de criticabilă ar fi, dă în momentul de faţă cele mai mici erori" (Jensen, 1963). Mai mult încă, pentru studii taxonomice, această metodă este indispensabilă.

Inocularea plăcilor se poate efectua în două feluri: în profunzime (aşa cum se procedează în majoritatea cazurilor) sau în suprafaţă (Mişustin, 1954; Wieringa, 1958; Papacostea şi Misirliu 1964). Avantajul însămînţării în suprafaţă constă în posibilitatea germenilor de a se înmulţi nestînjenit, dînd colonii de forme mai mult sau mai puţin caracteristice. Dezavantajele se leagă de necesitatea folosirii unei cantităţi reduse de inocul (0,1 ml) şi de concreşterea coloniilor, ceea ce scade din precizia determinării cantitative. Din cantitatea mică de germeni aflată în inocul, o parte rămîne pe spatula cu care se însămînţează mediul de cultură, mărind astfel gradul de eroare. În fine, însămînţarea în profunzime micşorează posibilitatea de manifestare a antagonismului între colonii, acestea fiind dispersate într-un volum mai mare.

Legată de problema modului de inoculare se pune şi problema volumului inoculului. Întrucît trebuie admis că suspensia-diluţie cu care se face inocularea nu este omogenă, este evident că erorile vor fi cu atît mai mici cu cît cantitatea de inocul va fi mai mare. Volumul inoculului nu poate fi mărit prea mult din diferite motive, cel mai important fiind acela că erorile la numărat sînt minime cînd pe placă există între 30—100 colonii. Indiferent însă de volumul inoculului, în scopul sporirii preciziei determinărilor este nevoie de un număr suficient de plăci-repetiţii. În această direcţie Wieringa (1958) recomandă un număr de 10 repetiţii. Ghinea şi colaboratorii (1965) şi Ştefanic (1965) consideră că pentru determinările cantitative, un număr de cinci repetiţii este întotdeauna satisfăcător.

Trebuie avut în vedere de asemenea temperatura la care se face incubarea probelor de sol însămînţate şi în corelaţia cu ea, timpul de incubare. În general sînt preferabile temperaturile mai scăzute, cu o perioadă de incubare mai îndelungată. Waksman (1922) propune

Scanned with OKEN Scanner

incubarea la 25—27°C, timp de minimum 5 zile, Thornton (1922) temperatura de 20°C, timp de 10—12 zile. Skinner (1952) prelungeşte timpul de incubare la 5 săptămîni, iar Lochhead şi Burton (1956) apreciază că sînt suficiente 14 zile.

b. **Valorificarea rezultatelor.** De obicei rezultatele determinărilor cantitative se exprimă în milioane de germeni la un gram de sol uscat. Mişustin (1964) este de părere că ar fi totuşi mai bine ca rezultatele să se calculeze la solul proaspăt. Procedeul este, evident, inaplicabil pentru soluri cu mari diferenţe de umiditate. Lazareva (1951) a propus exprimarea numărului total de microorganisme la gram de materie organică din sol, subliniind astfel dependenţa microflorei de sursa energetică. În acest caz diferenţe pot apare numai cînd se analizează diferite tipuri de sol. În cazul în care se analizează diferite variante agrotehnice pe acelaşi tip de sol, exprimarea la gram de sol este la fel de corectă.

Indiferent de modul de execuţie al unei analize microbiologice succesul ei depinde, după cum s-a văzut, de selectarea variaţiilor întîmplătoare de cele produse de factorii de cercetat (Hirte, 1961). Calculul statistic oferă tocmai această posibilitate. Calculul statistic, care a dus la atîtea rezultate valoroase în alte domenii ale biologiei, a pătruns destul de tîrziu în cercetările de microbiologia solului, deşi încă din 1910 Budinov iar Waksman în 1922 au arătat necesitatea lui. În cel mai bun caz, deşi se aplica calculul statistic, prin el se aprecia numai eroarea de laborator, deoarece se pornea de la proba medie de sol. Acest procedeu făcea deci imposibilă orice apreciere cu privire la neuniformitatea cîmpului.

Abia în deceniul al 6-lea s-a recunoscut necesitatea unui mod de aşezare a experienţei microbiologice de sol care să permită folosirea metodelor moderne de calcul. Müller şi Steinweg (1958) arată că analiza varianţei este corespunzătoare pentru stabilirea modificărilor microbiene în sol.

4. ANALIZA GRUPELOR DE MICROORGANISME

În momentul de faţă este larg răspîndită opinia că analiza microflorei totale este insuficientă pentru caracterizarea microbiologică a unui sol şi că ea trebuie completată cu analize mai mult sau mai puţin detaliate. În analiza amănunţită a microflorei solului unii cercetători apreciază că trebuie să se ţină seama de caracterele morfologice şi apartenenţa taxonomică a microorganismelor din sol. Alţii opinează pentru determinarea numărului microorganismelor care exercită în sol o anumită funcţie fiziologică (determinarea grupelor fiziologice propusă de Winogradsky şi dezvoltată de către Pochon). Diferenţa de concepţie nu este însă atît de netă cum pare : cercetătorii francezi, adepţi ai determinărilor pe grupe fiziologice, sînt totuşi obligaţi să considere separat grupele taxonomice mari de microorganisme din sol (bacterii, ciuperci, actinomicete, alge, protozoare etc.), în timp ce adepţii analizei taxonomice trebuie să determine separat numărul microorganismelor aparţinînd unor grupe fiziologice foarte bine caracterizate (nitrificatori, celulolitice etc.).

Scanned with OKEN Scanner

4.1. ANALIZA TAXONOMICĂ A MICROFLOREI SOLULUI

4.1.1. Analiza bacteriilor

În caracterizarea microflorei solului, Mişustin acordă o importanţă deosebită bacteriilor aerobe care formează spori. Pentru determinarea lor, probele de sol sînt uscate la aer, timp de 7 zile, după care se obţin suspensii-diluţii, conform tehnicii obişnuite. Acestea sînt apoi însămînţate pe un mediu cu bulion de carne în amestec cu extract de drojdii în părţi egale. Pe baza caracterului coloniilor ce cresc pe mediul de cultură se pot determina şapte tipuri de bacterii sporulate. Numeroşi autori însă nu sînt de acord nici cu principiul metodei şi nici cu tehnica folosită de Mişustin. De altfel, chiar acesta remarca (1954) :„Vorbind despre bacteriile sporulate ale solului, trebuie să arătăm că unii microbiologi, de exemplu Conn, le privesc ca forme aflate în stare latentă în sol. De aceea formele sporulate ale bacteriilor nu pot juca în procesele solului nici un rol important".

Părerea lui Conn concordă pe deplin cu cea a lui Winogradsky care, consideră că bacilaceele nu aparţin microflorei autohtone.

Este indicat însă să se facă o diferenţă între bacilaceele care se pot găsi în sol, atît sub formă de spori cît şi sub formă vegetativă şi bacteriile care se pot izola numai sub formă de spori. Se pot distinge bacterii sporogene în primul caz şi bacterii sporulate (sau pur şi simplu spori) în al doilea caz. Numeroase *Bacillaceae* (exemplu tipic fiind *Bacillus anthracis*) pot supravieţui în sol sub formă de spori, neputînd da naştere la forme vegetative sau influenţa în vreun fel viaţa solului. De asemenea, întrucît în conformitate cu părerea lui Mişustin, în fiecare tip de sol există forme specifice de *Bacillaceae*, nu este exclus ca o bacterie care duce o viaţă activă într-un sol să existe într-altul numai sub formă de spori. Este prin urmare necesar să determinăm separat formele vegetative şi sporii. O asemenea diferenţiere nu este însă posibilă cu metoda lui Mişustin, în cadrul căreia toate bacilaceele sînt determinate numai ca spori. Metoda Mişustin a mai fost criticată (Harmsen, 1964; Stotzky, 1964) şi pentru faptul că foloseşte medii de cultură neecologice care modifică raportul real dintre specii.

Krasilnikov obiectează împotriva uscării prealabile a solului care, pe de o parte duce la preponderenţa unor specii xerofite (altele decît bacilaceele), care invadează plăcile, iar pe de altă parte duce la diminuarea inegală a diferitelor specii de bacterii sporogene. Eliade şi Ghinea (1965) optează pentru următoarea tehnică de determinare a bacteriilor sporogene : determinarea numărului total pe mediu cu extract de sol, urmată de izolarea a 50% din colonii şi estimarea după şapte zile de cultură pe bulion a procentului de sporogene. Paralel se face determinarea separată a sporilor pe acelaşi mediu, prin pasteurizarea prealabilă a suspensiei. Se obţine astfel atît numărul bacteriilor sporogene în stare vegetativă, cît şi acela al sporilor bacterieni. Raportul dintre aceşti doi indici dă indicaţii preţioase în aprecierea stării de activitate a unui sol sau în aprecierea eficacităţii unei măsuri agrotehnice.

Scanned with OKEN Scanner

Determinarea ulterioară a speciilor, sau cel puţin a grupelor de *Bacillaceae* se poate face după S k e r m a n (1959), în care scop se folosesc două medii de cultură : mediu cu extract de cartof şi bulion de carne, la care se adaugă clorură de sodiu în proporţie de 7%. Pe aceste medii se pot recunoaşte : *Bacillus megaterium*, atît după forma coloniilor, cît şi după mărimea celulelor microbiene, grupul de bacili *mesentericus-idosus* care formează lanţuri lungi şi este capabil să crească pe bulion cu 7% clorură de sodiu şi *Bacillus coagulans* care se deosebeşte de grupul precedent prin aceea că nu creşte pe bulion cloruro-sodic. După forma caracteristică a coloniilor se pot determina *Bacillus cereus* şi *Bacillus mycoides*.

Bacteriile nesporogene din sol sînt reprezentate de o serie de specii gram-negative, gram-pozitive şi gram-variabile. Bacteriile gram-pozitive aparţin micobacteriaceelor şi verificarea apartenenţei lor se poate face prin coloraţia Z i e h l - N i e l s e n , precum şi micrococaceelor, caracterizate prin formă sferică (chiar şi în culturi de 24 ore). Dintre *Micrococcaceae* sînt reprezentative genurile *Sarcina* şi *Micrococcus*.

Bacteriile gram-variabile sînt reprezentate de un gen tipic în sol : genul *Arthrobacter*, caracterizat prin forme de bastonaşe în culturi şi de coci în culturi bătrîne.

Bacteriile gram-negative sînt reprezentate îndeosebi de genurile *Flavobacterium* (caracterizat de pigmentul său galben şi forma alungită) şi de genul *Pseudomonas*.

Este evident că s-a dat aici numai descrierea foarte generală care pentru un adevărat studiu taxonomic al bacteriilor din sol nu poate servi drept ghid, fiind necesară în acest scop folosirea determinatorului B e r g e y .

G h i n e a şi colab. (1965) au arătat că analiza taxonomică a florei bacteriene trebuie însoţită de aprecieri statistice, cu atît mai riguroase cu cît grupa considerată este mai puţin reprezentată în sol. S-a demonstrat că grupele de microorganisme cu frecvenţă mică sînt mai heterogen răspîndite în sol (de exemplu, bacteriile nesporogene), decît grupele reprezentate printr-un mare număr de indivizi. Deosebit de necesară este verificarea variaţiei grupelor mici, deoarece în cazul lor pot apărea distribuţii de tip Poisson, în care caz metodele statistice uzuale nu sînt indicate. Diferitele grupe de bacterii din sol au reguli proprii de heterogenitate, ceea ce face ca raporturile ce se stabilesc între aceste grupe să aibă într-o mare măsură un caracter arbitrar. Cînd deosebirile sînt suficient de mari (ca între două tipuri diferite de sol), se poate realiza o diferenţiere pe principii taxonomice. Nu în aceeaşi măsură un asemenea mod de analiză se poate aplica pentru caracterizarea diferitelor variante agrotehnice pe acelaşi tip de sol.

Cu tot volumul impresionant de muncă ce-l presupune, în analizele microbiologice de sol s-a aplicat şi metoda taxonomiei numerice, prin care se stabileşte gradul de afinitate între microorganisme pe baza unui mare număr de teste, ţinîndu-se seama exclusiv de numărul de teste pozitive şi negative. G y l l e m b e r g (1964) şi P a p a c o s t e a şi colab. (1965) realizează primele cercetări de acest fel. Ulterior S k y r i n g şi Q u a d l i n g (1969) folosesc metoda în studiile de rizosferă. S u n d m a n (1970) analizează cu această metodă micropopulaţia a patru soluri

finlandeze, găsind că microflora lor se poate diferenţia cu ajutorul a şase teste, care produc 56% din variaţia totală. Aceste teste sînt următoarele:

— activitatea oxidazică şi nitrat-oxidazică;
— caracterizarea răspîndirii bacteriilor din genul *Bacillus*;
— posibilitatea de a utiliza acidul pirocatehuic;
— toleranţa la pH;
— cerinţele nutriţionale;
— pigmenţii difuzibili.

Alte 38 teste au o valoare discriminatorie redusă.

Printre cei şase factori amintiţi, producerea de pigmenţi difuzibili era strîns corelată cu activitatea hidrolitică intensă, îndeosebi faţă de esterii fosforici, precum şi cu rezistenţa la penicilină, posibilitatea de a utiliza în metabolism compuşi aromatici şi activitatea denitrificatoare. Toate aceste însuşiri pot fi legate de genul *Pseudomonas* şi au caracterizat 4% din tulpinile microbiene izolate de autoare.

4.1.2. Analiza ciupercilor

Pentru prelucrarea probelor de sol în vederea analizei micologice, se foloseşte de regulă tehnica Koch, adaptată de Adametz încă din 1886.

Mai rar folosite, metodele de microscopie directă au adus totuşi reale servicii în studiul fungilor. Printre acestea trebuie citată în primul rînd metoda Jones-Mollison, cu ajutorul căreia s-a putut stabili, pentru prima dată, proporţia dintre ciupercile aflate în sol în stare activă şi formele de rezistenţă. Bineînţeles, neajunsurile metodei sînt aceleaşi ca şi în cazul folosirii ei pentru bacterii. Este vorba în primul rînd de imposibilitatea distingerii hifelor vii de cele moarte.

Izolarea hifelor vii se poate obţine cu ajutorul metodei camerelor de sol a lui Holodnîi, de fapt o modificare a metodei plăcilor de pămînt imaginată de Winogradsky. Solul umed este mulat în interiorul unui vas Petri şi în el se fac mai multe deschideri cu diametrul de cca. patru milimetri. Acestea se acoperă cu lamele de sticlă şi se incubează în atmosferă umedă. În deschideri, încep să crească hife, aparţinînd îndeosebi ciupercilor ce reclamă consum mare de oxigen. Cînd acestea încep să formeze spori, se poate trece la identificarea lor.

Chinn (1953) a introdus în sol lame de sticlă, pe care era întinsă o suspensie de spori aparţinînd diferitelor specii de ciuperci. Metoda permite aprecierea condiţiilor pe care aceşti spori le găsesc în sol pentru a germina şi a produce miceliu.

Întrucîtva asemănătoare este şi metoda tubului de imersie (Chesters, 1940, 1948). În sol se introduce un tub de sticlă sau plastic prevăzut cu orificii capilare. În centrul tubului se găseşte un mediu nutritiv gelozat. Prin orificiile capilare pot pătrunde spre mediu hifele ciupercilor dar nu şi sporii. În felul acesta se pot determina cantitativ numai formele active ale ciupercilor din sol. Principala deficienţă a metodei constă în aceea că menţine în tub un oarecare grad de anaerobioză.

Scanned with OKEN Scanner

Pe acelaşi principiu cu metoda Chesters se bazează metoda mai simplă propusă de la Touche (1948). Acesta foloseşte în acelaşi scop două lame de microscop lipite godeu la godeu, iar în spaţiul format introduce mediu nutritiv.

Ar mai fi de menţionat unele metode de cultivare a ciupercilor pe medii de cultură, fără folosirea suspensiilor-diluţii. Printre acestea se numără „metoda capcanelor". Se folosesc sfere mici de caolinit şi lignină plasate în sol. După un timp sferele se scot şi se însămînţează pe medii adecvate. Metoda a fost folosită cu mult succes la studiul descompunerii ligninei. S-a demonstrat în felul acesta că lignina este descompusă în sol în primul rînd de ciupercile genurilor *Cylindrocarpon*, *Monocillium*, *Volutella*, ciuperci greu de izolat prin alte metode.

O altă variantă a acestei categorii de metode o reprezintă tehnica folosită de Waksman (1916). Autorul a însămînţat direct cuburi de sol cu latura de 1 cm pe suprafaţa mediului Czapek. După o incubare de 24 ore la 22°C, a trecut la izolarea apexurilor hifelor crescute. Prin acest procedeu se izolează numai micelüle active din sol, deoarece sporii nu au timp suficient pentru a germina şi a produce miceliu. Saito (1955) a arătat însă că mucoralele produc foarte repede micelii din spori. De aceea Warcup (1960) consideră metoda depăşită. Trebuie menţionat că încă din 1951 Garret considera metoda ca fiind selectivă numai în cazul ciupercilor cu creştere rapidă.

Revenind la metodele clasice, trebuie în primul rînd menţionat că acţiunea mediilor de dispersie asupra ciupercilor este mai slabă decît asupra bacteriilor (Zviaghinţev, 1963). Din numeroasele teste efectuate s-a constatat că ciupercile familiilor *Mucedineae* şi *Dematiaceae* sînt sensibile la acţiunea toxică a soluţiilor dispersante.

Problema obţinerii unor bune suspensii-diluţii pentru estimarea cantitativă şi taxonomică a ciupercilor este complicată, datorită necesităţii de a determina în acelaşi timp (fie chiar şi aproximativ) starea lor de activitate în sol. Se ştie că în sol ciupercile se pot găsi fie sub formă de miceliu vegetativ, fie sub formă de micelii care poartă corpuri de fructificaţie ce conţin un număr imens de spori. Evident, participare activă la viaţa solului are numai miceliul vegetativ. În cursul prelucrării probei de sol, miceliul vegetativ se poate fragmenta într-un număr de fragmente care vor da naştere unui număr corespunzător de colonii pe plăci. Acest număr redus de colonii corespunde însă la o foarte intensă activitate biochimică.

Corpii de fructificaţie se dispersează mult mai uşor, iar prin dispersare produc un număr imens de colonii, cărora nu le corespunde însă şi o activitate biochimică corespunzătoare.

Omogenizarea mecanică a probelor de sol, atît de necesară pentru determinarea bacteriilor, favorizează dispersia corpurilor de fructificaţie, mărind erorile în determinarea ciupercilor. Ghinea şi colab. (1965) au arătat că pe măsură ce creşte capacitatea de fructificare a diferitelor specii de ciuperci, creşte şi eroarea ce însoţeşte determinarea lor cantitativă. Această regulă este valabilă şi pentru ciupercile reprezentate în sol de un număr mare de indivizi, specii de obicei mai puţin supuse hazardului în ceea ce priveşte distribuţia cantitativă.

Scanned with OKEN Scanner

Warcup (1960) arată că 75% din coloniile izolate pe plăci provin din spori, 20% din fragmente de hife legate de particulele de humus şi numai 5% din hife izolate.

Montegut (1960) consideră că este totuşi singura metodă care dă rezultate relativ reproductibile în cazul solurilor mai grele. Peyronel (1956) consideră metoda perfect utilizabilă cu condiţia standardizării:

— metodei de efectuare a suspensiilor-diluţii;
— cantităţii de inocul folosit;
— porţiunii de lichid pipetat la fiecare diluţie;
— duratei de agitare a suspensiei.

Pentru estimarea cantitativă numai a acelor ciuperci care duc în sol o viaţă activă, diferiţi autori au propus înlăturarea prealabilă prin spălare a sporilor fungici, indicînd şi instalaţiile corespunzătoare pentru atingerea acestui scop (Parkinson şi Kendick, 1960; Parkinson şi Williams, 1961). În solurile astfel spălate scade concentraţia speciilor ce sporulează puternic şi pot apare specii noi care altfel nu se pot izola pe plăci.

O altă problemă de rezolvat este acea a coloniilor bacteriene ce cresc pe plăcile destinate estimării fungilor. Într-adevăr, în sol se găseşte o populaţie bacteriană de cîteva sute de ori mai numeroasă decît cea fungică. Pentru determinarea ciupercilor trebuie folosite diluţii de sol mai puţin avansate decît pentru bacterii. În aceste condiţii bacteriile din sol pot invada plăcile în care se fac determinările.

Waksman (1922) a reuşit pentru prima dată să determine ciupercile pe plăci lipsite de bacterii, prin acidificarea mediului de cultură la pH = 4,5. Roberts şi Bollen (1955) folosesc aceeaşi metodă, deşi încă în 1944 Brierley şi apoi Smith şi Dawson au arătat că la această valoare de pH nu pot creşte toate grupele de ciuperci ce există în sol. Smith şi Dawson au recomandat folosirea unui agent bacteriostatic (Bengal-roz). Martin (1950) stabileşte o tehnică de lucru în care acţiunea bactericidă a colorantului Bengal-roz este asociată cu cea a streptomicinei.

Dintre mediile de cultură o răspîndire foarte mare a avut-o mediul Czapek. Waksman şi Fred (1922) preferă un mediu cu glucoză şi peptonă, arătînd că pe acest mediu se poate izola un număr mai mare de ciuperci.

Verona (1958) recomandă mediul cu humat propus de Barjac sau pe cel cu extract de sol propus de Chalvignac.

Mediile de uz curent în momentul de faţă sînt: cel recomandat de Waksman (1922), completat de Martin prin adaos de roz-Bengal şi streptomicină, precum şi mediul cu extract de malţ propus de Warcup. Dintre aceste două medii, Naguib (1966) consideră că pe extractul de malţ se obţin rezultate mai bune decît pe mediul Martin. Rezultatele comparative obţinute de Eliade (1966) pe mai multe medii de cultură privind conţinutul în ciuperci al unui sol de tip cernoziom moderat levigat au demonstrat cu claritate superioritatea formulei Martin (cel puţin pentru tipul de sol cernoziom), atît ca număr mai mare de ciuperci, cît şi ca posibilităţi de reducere a erorilor.

Scanned with OKEN Scanner

Un aspect care cauzează numeroase neplăceri în cazul folosirii mediilor solide, este oferit de ciupercile cu creştere rapidă care tind să invadeze suprafaţa mediului de cultură (*Mucor*, *Trichoderma*, *Sporotrichum*) făcînd astfel dificilă dezvoltarea, numărarea şi identificarea celorlalte colonii. Acţiunea acestor ciuperci, precum şi apariţia de colonii fungice secundare poate fi evitată prin numărarea şi izolarea ciupercilor după două zile de incubare (W a k s m a n , 1928).

În ceea ce priveşte numărul de repetiţii necesare unor determinări asigurate, s-a demonstrat (G h i n e a şi colab., 1965) că frecvenţa coloniilor de ciuperci variază mai mult de la placă la placă, decît de la o repetiţie de sol la alta. Această constatare nu trebuie să ducă la concluzia că răspîndirea ciupercilor în sol este mai puţin heterogenă decît cea a bacteriilor. Autorii arată că folosirea unei probe-repetiţii de cîmp, cu 12 repetiţii de laborator sporeşte de trei ori precizia determinărilor în raport cu situaţia în care se analizează trei repetiţii de cîmp, cu cîte patru repetiţii de laborator. În acest caz, nu se poate aprecia însă eroarea cauzată de heterogenitatea cîmpului. Regula amintită mai sus, pentru numărul total de ciuperci, nu este de altfel valabilă şi pentru unităţile sistematice ce compun micoflora. G h i n e a şi colab. (1965) arată că dimpotrivă, pentru ciupercile din genul *Penicillium*, folosirea a trei repetiţii de laborator asigură o precizie mai bună a rezultatelor. Autorii arată de asemenea că la fel ca şi în cazul bacteriilor, cu cît o unitate taxonomică este mai puţin reprezentată în sol, cu atît distribuţia ei este mai mult supusă variaţiilor.

În ceea ce priveşte exprimarea rezultatelor, pentru determinările cantitative se folosesc aceleaşi formule ca şi la bacterii, iar valorificarea statistică se face după reguli asemănătoare.

4.1.3. Analiza actinomicetelor

Problemele ce se pun la determinarea cantitativă a actinomicetelor sînt asemănătoare cu cele întîlnite la ciuperci (dispersia corpilor de fructificare, necesitatea eliminării bacteriilor şi ciupercilor de pe plăci etc.).

Dintre mediile de cultură utilizate, N a g u i b (1966), arată că cel preparat după formula lui K r a s i l n i k o v dă rezultate mai bune comparativ cu cele propuse de J e n s e n. Rezultate satisfăcătoare se obţin şi prin folosirea mediilor cu extract de drojdii (G a u z e, 1957; M ü l l e r, 1959), sau cu glicerină şi acid asparaginic (S t a p p, 1958; H i r t e, 1961), mediile cu chitină (L i n g a p p a—L o c k w o o d) sau mediul O l s o n cu cazeină (Chea E a k—H o m şi L e d u c, 1973).

Actinomicetele cresc la fel de bine şi pe mediile folosite la numărarea bacteriilor (mediu cu extract de sol, mediul T h o r n t o n şi mediul H i r t e). Estimarea lor cantitativă corectă presupune un mediu destul de selectiv pentru a nu permite creşterea rapidă a bacteriilor. În felul acesta, după un anumit timp, de regulă în jur de 20 de zile, actinomicetele capătă un aspect caracteristic şi sînt uşor de recunoscut. Aceste condiţii sînt îndeplinite de mediul amilo-amoniacal propus de B e r e z o v a. În prezenţa amidonului ca material energetic, bacteriile

asimilează mai greu amoniacul, ceea ce asigură creşterea preponderentă a actinomicetelor. Pe plăcile cu mediul Berezova, bacteriile lipsesc aproape complet după o săptămînă de incubare. Dacă se înlocuieşte azotul amoniacal cu cel nitric (ca în formula propusă de Gauze), selectivitatea mediului scade foarte mult, dar coloniile de actinomicete devin mai caracteristice şi pot fi triate în diferite serii.

Determinarea taxonomică a actinomicetelor este o problemă insuficient rezolvată în prezent. Un sistem practic de clasificare este cel propus de Gauze (1957). El este simplu şi permite selectarea unor grupe cu rol bine determinat în viaţa solului.

4.1.4. Analiza algelor

În general determinarea cantitativă şi taxonomică a algelor din sol se face prin metode de microscopie directă (în fluorescenţă) sau prin metode culturale, similare cu cele folosite în cazul bacteriilor. O a treia categorie de metode constă în extragerea clorofilei pe care algele o produc în sol şi dozarea ei.

4.2. ANALIZA GRUPELOR FIZIOLOGICE ALE MICROFLOREI SOLULUI

Metoda determinării cantitative a grupelor fiziologice de microorganisme a fost precizată de Pochon şi colaboratorii (1957) care au reluat într-o formă unitară ideile lui Winogradsky şi realizările de ordin practic obţinute pe baza lor de către grupul de cercetători de la Institutul Pasteur.

Determinările se fac prin metoda diluţiilor, folosind medii selective (de preferinţă lichide). Zilnic se urmăreşte reacţia ce caracterizează grupa respectivă (fie metabolizarea substratului, fie apariţia unui catabolit în mediul de cultură). După scurgerea perioadei de incubare necesară, se face aprecierea cantitativă a numărului de germeni. Rezultatul se exprimă printr-o cifră (numărul de germeni din grupa considerată) şi o curbă (care ilustrează activitatea germenilor studiaţi). Determinarea în acelaşi timp a numărului şi a activităţii microorganismelor din diferitele grupe fiziologice este deosebit de importantă, dată fiind polivalenţa microorganismelor din sol.

Alte calităţi ale metodei ţin de faptul că propune o metodologie unică pentru toate grupele de microorganisme, simplă şi cu proprietăţi generale de aplicare.

Metodele bazate pe principiile elaborate de Pochon şi colaboratorii săi s-au aplicat la studiul diferitelor grupe de microorganisme care realizează în natură circuitul carbonului, azotului, sulfului etc. Prezentarea tuturor metodelor utilizate (între care unele mai păstrează doar caracter istoric) ar ocupa prea mult spaţiu, de aceea ne vom referi doar la cîteva folosite la determinarea următoarelor grupe de microorganisme :

a. **Microorganismele celulolitice.** Dintre grupele de microorganisme care participă la circulaţia carbonului în natură, grupa microorganismelor

celulolitice este desigur cea mai importantă, datorită ponderii foarte mari pe care o are celuloza printre compuşii organici cu carbon ce ajung în sol.

Descompunerea celulozei poate fi realizată de către microorganisme aerobe şi anaerobe, termofile şi mezofile.

Dintre acestea un rol foarte important îl joacă microorganismele celulolitice aerobe. Pentru estimarea lor cantitativă şi taxonomică se folosesc de obicei medii de cultură solidificate, strict minerale la care sursa de carbon este celuloza pură. Mediul poate fi însămînţat fie cu granule de sol (metodă azi depăşită), fie cu o cantitate cunoscută de suspensie de sol. Dintre mediile de cultură cele mai bune recomandări le are mediul Hutchinson. După o incubare de şapte zile la temperatura de 28°C se pot distinge coloniile de microorganisme care au atacat celuloza.

b. **Microorganismele care descompun hemicelulozele şi amidonul.** Determinarea germenilor ce descompun hemicelulozele şi amidonul se poate face folosind tehnica lui Augier (1956) sau pe cea a lui Barjac şi Chalvignac (1954), al căror principiu este comun; testarea zilnică a descompunerii substratului. Aceasta se poate face cu deosebită uşurinţă pentru amidon, care, după cum se ştie, dă cu iodul o gamă întreagă de colorаţii (de la albastru intens, trecînd prin roşu la incolor) corespunzător cu gradul de descompunere.

c. **Microorganismele producătoare de metan.** În ceea ce priveşte bacteriile care produc metan, Söhngon (1906) propune estimarea lor cantitativă prin metode manometrice. Dvorkin şi Forster (1956), Leudbetter şi Forster (1958), folosesc în acest scop analiza gazelor, absorbind mai întîi bioxidul de carbon pe potasă caustică, iar apoi oxigenul pe pirogalol. Se determină în acest fel cantitatea de metan produsă. Holles (1966) şi Naguib (1970) folosesc la analiza gazelor produse de aceste microorganisme metoda gaz-cromatografică.

d. **Microorganismele fixatoare de azot.** Din circuitul azotului, stadiul iniţial şi esenţial este cel al fixării azotului atmosferic. Determinarea numărului microorganismelor fixatoare de azot nu se poate face decît în mediu lichid, deoarece pe medii solidificate, cantităţile de azot pătrunse pe alte căi decît din atmosferă, permit dezvoltarea unui mare număr de germeni care nu fixează azotul (oligonitrofili).

Pentru aprecierea numerică a acestor germeni nu este permis să se folosească dispersanţi, deoarece aceştia sînt toxici (Zarnea şi Nestorescu, 1961).

Indiferent însă de metoda folosită, rezultatele rămîn deosebit de imprecise, datorită mediilor lichide, dar mai ales tendinţei naturale a celulelor de *Azotobacter* de a forma mase compacte ce nu se desfac. Datorită acestei caracteristici numai hazardul generează trecerea într-o soluţie sau alta a unei mase compacte de celule de *Azotobacter*.

e. **Microorganismele proteolitice şi amonificatoare.** Numărul bacteriilor proteolitice se apreciază de obicei pe mediu de gelatină, stabilindu-se numărul coloniilor care produc fluidificarea acestui mediu.

Numărul bacteriilor amonificatoare se poate stabili pe medii speciale, care nu conţin substanţe energetice ternare, dar care conţin peptonă, făină de sînge, făină de soia etc.

Tehnica cea mai cunoscută este cea a lui de Barjac şi Pochon (1953), în care materialul amonificabil este tirozina, a cărei dispariţie din mediu se determină zilnic cu ajutorul reactivului Millon. Nu se poate însă afirma că toţi germenii care în cultură pură produc amoniac din substanţe organice cu azot, participă la amonificare în sol. Această posibilitate este extrem de răspîndită în lumea microorganismelor, dar ea nu are întotdeauna raporturi reale cu procesul amonificării.

f. **Microorganismele nitrificatoare.** Determinarea numărului de germeni din sol care pot oxida amoniacul la acid nitros şi respectiv, pe acesta la acid nitric, este posibilă numai pe medii lichide, strict minerale, folosind metoda suspensiilor-diluţii. Substratul îl constituie sulfatul de amoniu şi respectiv nitritul de sodiu. Se determină zilnic apariţia acidului nitros (cu reactiv Peter-Griess) şi respectiv a acidului nitric (cu difenil amină sulfurică).

g. **Microorganismele denitrificatoare.** Numărul de germeni capabili să producă în sol denitrificarea se poate determina pe medii de cultură lichide, stabilindu-se modificarea pH-ului în sens alcalin şi degajarea de azot gazos.

Limitele metodelor expuse mai sus nu trebuie însă să descurajeze pe cercetătorul microbiolog. Numărul relativ al microorganismelor, determinat prin aceste metode, se dovedeşte surprinzător de reprezentativ pentru condiţiile de eroare acceptate. Numărul microorganismelor din sol determinat pe o perioadă mai lungă de timp poate fi considerat ca un indice al fertilităţii solului, deoarece eliminînd abaterile datorită temperaturii sau altor cauze accidentale, el reflectă abundenţa solului în material nutritiv. Este totuşi posibil ca un factor care limitează microflora, să nu fie limitativ pentru plantele superioare (acesta este spre exemplu cazul materialului energetic cu care adesea numărul de microorganisme se corelează direct, în vreme ce plantele superioare sînt influenţate negativ prin intermediul imobilizării azotului). Pentru acest motiv, numărul diferitelor microorganisme dintr-un sol va fi considerat, de regulă, ca un indice descriptiv pentru solul dat, nu ca un indice de fertilitate.

4.3. ANALIZA GRUPELOR DE NUTRIŢIE

În 1938, Lochhead şi Taylor au făcut cunoscută existenţa unor grupe de microorganisme care se diferenţiază între ele prin capacitatea de a se nutri în mod diferit, de a cere de la mediul înconjurător un anumit fel de hrană pentru a-şi urma ciclul biologic. Astfel s-au putut evidenţia, prin analize de sol, microorganisme care pentru a se dezvolta şi a se înmulţi, au nevoie de săruri minerale şi de glucoză, altele de substanţe nutritive mult mai complexe. Lochhead şi Chase (1943), după un studiu amănunţit asupra mai multor soluri, folosind un număr de şapte medii nutritive de diferite complexităţi (recomandate de West şi Lochhead în 1940), au ajuns la concluzia că: „echilibrul dintre diferitele grupe de organisme care există în orice sol, la orice timp dat, depinde în mare măsură de accesibilitatea substanţelor nutritive cerute pentru creşterea lor". Deşi antagonisme speciale şi prezenţa facto-

rilor toxici pot deforma aceste relaţii, echilibrul se realizează în principal în funcţie de substanţele nutritive necesare.

Şcoala canadiană, promotoarea acestei direcţii de studiu, a reuşit să evidenţieze şi să grupeze microflora solului în următoarele grupe principale de nutriţie:

— microfloră cu pretenţii reduse de nutriţie, capabilă să-şi sintetizeze factorii de creştere;

— microfloră care pentru a se înmulţi are nevoie de azot aminic;

— microfloră care nu-şi poate sintetiza principalii factori de creştere şi de aceea trebuie să găsească în mediul nutritiv, pe lîngă săruri minerale şi glucoză, aminoacizi şi factori de creştere.

Lochhead şi Rouatt (1955), Katznelson şi colab. (1955) au remarcat existenţa unui echilibru al grupelor de nutriţie diferit în rizosferă de cel din sol. În rizosferă, datorită secreţiilor radicelare se selecţionează cu precădere o microfloră care necesită aminoacizi în nutriţie. Cook şi Lochhead (1959) au constatat însă în sol o dominanţă a microorganismelor care pretind în nutriţia lor, unul sau mai mulţi factori de creştere.

5. ANALIZA ACTIVITĂŢII MICROFLOREI SOLULUI

5.1. PRINCIPII GENERALE

Trebuie arătat că la metodele de determinare a germenilor direct în sol şi la cele indirecte, bazate pe cultivarea lor pe medii de cultură potrivite, rezultatele obţinute sînt departe de a fi concordante. Cifrele obţinute prin numărători directe la microscop sînt de circa 100 ori mai mari ca cele obţinute prin determinări indirecte. Cauza acestor discrepanţe trebuie căutată în aceea că, exceptînd erorile comune ambelor metode, toate erorile de la numărarea directă tind să mărească numărul real de germeni (prin numărarea, în parte a unor germeni morţi, a unor particule de sol), în timp ce erorile de la determinările indirecte tind să micşoreze numărul de germeni (în special datorită lipsei unui mediu universal). Indiferent însă de aceste consideraţii teoretice, o diferenţă aşa de mare între cele două categorii de metode sugerează o importantă deosebire în ceea ce priveşte capacitatea de creştere a microorganismelor, fapt care desigur trebuie să se reflecte şi în activitatea lor fiziologică.

De aceea interesul crescînd în microbiologia solului se îndreaptă nu spre cunoaşterea grupelor de microorganisme din sol, a reprezentării numerice a fiecărei specii, ci spre cunoaşterea activităţii lor (Burges şi Raw, 1967).

Deşi metodele bazate pe determinarea activităţii microorganismelor direct în sol au apărut de mult timp, interesul tot mai larg pentru folosirea lor trebuie căutat în enunţarea şi acceptarea principiului ecologic al lui Winogradsky, care presupune implicit astfel de teste: „Trebuie să ne ocupăm de solul ca atare, în loc de a ne mulţumi să izolăm germeni docili la metodele noastre ..... Dacă neglijăm solul, ne lipseşte chiar veriga principală a ciclului experimental. În loc să facem microbiologia solului, ne mărginim la microbicultură".

Scanned with OKEN Scanner

Superioritatea metodelor bazate pe aprecierea activității desfășurate de microorganisme în sol a fost demonstrată de numeroși cercetători. Bazîndu-se pe concluziile acestora, W a k s m a n și S t a r k e y (1947) consideră drept un fapt stabilit lipsa corelației între indicii de frecvență ai diferitelor microorganisme din sol și activitatea lor.

Un avantaj al testelor biochimice de apreciere a activității microorganismelor îl constituie posibilitatea folosirii unor probe de sol mai mari și deci mai reprezentative. Pentru determinarea numărului și componenței taxonomice a florei bacteriene a solului se folosesc maximum 10 ml dintr-o suspensie-diluție care conține 10^{-6} g sol, adică de fapt a suta mia parte dintr-un gram de sol. Din numărul total de colonii crescute se determină în cel mai bun caz 50 %, adică micropopulația a 1/200 000 g sol. În aceleași condiții, pentru analiza activității microflorei solului se folosește o cantitate de sol de cîteva milioane de ori mai mare. D o m m e r g u e s (1960) a dovedit statistic realismul considerațiilor care conduc la concluzia că determinarea activității chimice a microorganismelor din sol este cea mai precisă metodă în aprecierea microflorei solului.

Realitatea nu a confirmat aserțiunea lui P o c h o n și colab. (1957) după care analizele sînt laborioase și puțin precise într-un mediu atît de complex cum este solul. Dimpotrivă, majoritatea metodelor folosite azi în aprecierea activității microflorii solului sînt relativ simple și permit folosirea unui mare număr de repetiții, ceea ce de asemenea contribuie la sporirea preciziei determinărilor.

Nu se poate considera ca un impediment serios faptul că aceste metode nu dau informații asupra frecvenței microorganismelor în sol. În aceeași măsură, se poate obiecta că metodele clasice nu precizează activitatea microorganismelor determinate. Ceea ce contează este mecanismul unui proces legat de fertilitatea solului și nu numărul factorilor prin care el se realizează.

Se afirmă de asemenea că în cazul folosirii solului ca atare, factorii în joc (și interacțiunile dintre ei) sînt foarte numeroși și fac dificilă interpretarea. În realitate, metoda permite tocmai modificarea unui singur factor (cel cu care se experimentează), în condițiile menținerii tuturor acestor interacțiuni. Rezultatele obținute sînt aplicabile în mod direct solului din care provine proba, ceea ce nu este cazul cu rezultatele obținute prin alte metode.

5.2. DETERMINAREA RESPIRAȚIEI SOLULUI

Respirația solului a fost inițial definită ca un schimb de gaze între faza solidă a solului pe de o parte și faza lichidă și gazoasă, pe de altă parte. Ulterior, odată cu progresele înregistrate în tehnicile și aparatura de investigație, conținutul acestei noțiuni a fost mai bine precizat. În această direcție G i l m o u r și colab. (1958) au arătat că aprecierea respirației solului, așa cum a fost definită mai sus, nu este satisfăcătoare deoarece în sol au loc schimburi de gaze ca hidrogen, metan, azot, ce nu pot fi considerate ca procese respiratorii. Ca urmare s-a propus limitatarea noțiunii de respirație numai la procesele de absorbție de oxigen și eliminare de bioxid de carbon. Definiția a fost adoptată, cu toate obiecțiile aduse, pri-

Scanned with OKEN Scanner

vind existența proceselor de natură pur chimică consumatoare de oxigen și producătoare de bioxid de carbon întîlnite în sol (D o m s c h , 1962).

În concepția actuală, mecanismul respirației solului constă într-un ansamblu de reacții catalitice, în care rol principal îl au enzimele elaborate de organismele din sol, indiferent dacă acționează în interiorul sau în afara corpului lor. Pe lîngă acestea, acționează catalitic și alte enzime de diferite origini, coloizii solului, precum și unele complexe organice și anorganice. Practic se pare că nu există posibilități de a separa procesele de natură biologică de cele nebiologice fără a afecta conținutul însuși al respirației solului. Sterilizarea acestuia prin căldură, substanțe chimice sau radiații poate altera coloizii solului și suprafețele active, astfel încît nu este posibilă extinderea unor concluzii obținute prin acest procedeu la solul ca atare.

Determinarea respirației se poate face pe probe de sol în laborator sau direct în cîmp.

Deși mai laborioase și complicate, în ceea ce privește baza tehnică, analizele de cîmp sînt mai indicate, întrucît ne dau relații asupra activității microorganismelor în mediul lor de viață, nealterat prin prelucrarea de laborator.

Determinările de laborator oferă avantajul simplificării tehnice, dar din punct de vedere interpretativ ridică numeroase dificultăți. În primul rînd, trebuie citate neajunsurile generate de recoltarea și prelucrarea probelor de sol. Numeroși autori (B u n t și R o v i r a., 1955 ; D r o b n i k, 1960; S o u l i d e s și A l l i s o n , 1961) au arătat că la recoltarea solului intervin modificări profunde în regimul de umiditate, temperatură și aerație, precum și în structura solului.

Determinarea respirației pe probe de sol în laborator ridică și unele probleme legate de respectarea temperaturii de incubare. În această direcție D r o b n i k o v a și D r o b n i k (1965), C h a s e și G r a y (1957) recomandă ca limitele temperaturii de incubare să fie cu strictețe menținute între 27 și 28°C.

5.2.1. Metode pentru măsurarea respirației solului

Respirația solului se determină prin aprecierea cantitativă a următorilor doi factori :

— volumul de bioxid de carbon (QCO_2) eliberat de sol. Se exprimă la unitatea de sol în unitate de timp ;

— volumul de oxigen molecular (QO_2) absorbit de sol. Mărimea lui este de asemenea raportată la unitatea de timp pe unitatea de sol.

De la acești doi factori de bază pot fi derivate și alte valori. Dintre acestea, cel mai des folosit este coeficientul respirator (RQ) dat de raportul QO_2/QCO_2.

Metodele de determinare a acestor doi indici pot fi manometrice sau de absorbție. În funcție de cantitățile de gaz analizate, de sensibilitate și de aparatura folosită, metodele pot fi micro- și macrorespirometrice.

a. **Metode pentru determinarea bioxidului de carbon.** Determinarea bioxidului de carbon, unul din primii indici folosiți în microbiologia solului, se bucură și azi de o largă aplicabilitate (K r z y s c h, 1964 ;

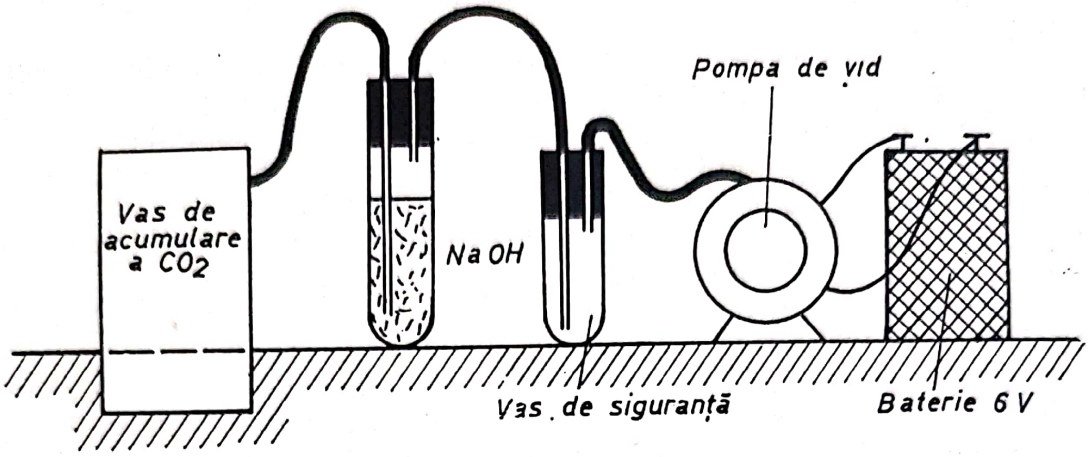


Fig.17. Schema aparatului de determinare a bioxidului de carbon bazată pe principiul absorbției (după Walis și Wilde, 1964)

Tamm și Krzysch, 1964; Swaby și colab, 1953; Allison, 1959). Majoritatea metodelor de determinare a bioxidului de carbon se bazează pe principiul absorbției. Un exemplu fidel este reprezentat de metoda Isermeyer (1952), care se bazează pe prinderea bioxidului de carbon eliminat de sol într-un vas închis, pe o bază slabă cu titru cunoscut. Cantitatea de gaz absorbit precipită o parte echivalentă a bazei, în așa fel că, după titrarea cu un acid slab, se poate ușor calcula cantitatea de bioxid de carbon absorbit. Metoda este din punct de vedere tehnic ușor de realizat , dar este lipsită de aplicabilitate, mai ales în situațiile în care se urmăresc determinări pe intervale mari de timp (Naumann, 1963).

O variantă a metodei absorbției este cea descrisă încă din 1911 de către Lemmermann, în care bioxidul de carbon degajat se determină gravimetric, prin cîntărirea precipitatului de carbonat format în soluția bazică.

O metodă modernă pentru aprecierea cantității de bioxid de carbon absorbită se bazează pe cunoscutul principiu al măsurării modificărilor ce le suferă capacitatea de conductibilitate a bazei după absorbția acestuia. Metoda a fost mult folosită de Zottl (1960) și Martin (1959) care o recomandă, în special, pentru determinările de lungă durată.

Cu toate recomandările din literatură menite a demonstra utilitatea determinării bioxidului de carbon ca indice pentru aprecierea activității biologice globale a solului, lucrările lui Hofmann și Hoffmann (1962) pun la îndoială calitatea de indice biologic al acestui test. Autorii consideră că acest proces nu poate fi denumit respirația solului, din următoarele motive :

— procesul de respirație nu este în mod obligatoriu legat de degajarea de bioxid de carbon. Biochimia înțelege prin respirație numai asimilarea oxigenului într-o combinație organică cu eliberare de energie, adică o oxidare ;

— se ia în considerare și bioxidul de carbon format în sol sub acțiunea acizilor organici. Întrucît în acest caz produsul finial nu poate fi separat de cel

realizat pe cale biologică, el intervine în calcul, ducînd la obţinerea unor valori inexacte;

— în solul cultivat este eliminat în mod continuu bioxid de carbon de către rădăcinile plantelor superioare, proces ce poate fi considerat respiraţie, dar care depăşeşte sfera noţiunii de respiraţia solului;

— în sfîrşit trebuie amintit faptul, că mai ales în regiunile cu regim bogat de precipitaţii, bioxidul de carbon produs în sol poate fi transportat în cantităţi mari de apa de precipitaţii în straturile mai profunde ale solului, scăpînd astfel posibilităţilor noastre de investigaţie.

Ca urmare, autorii citaţi consideră că respiraţia solului nu poate fi studiată decît pe baza consumului de oxigen.

b. **Metode pentru determinarea oxigenului consumat.** Metodele ce urmăresc determinarea respiraţiei solului prin consumul de oxigen au de regulă la bază principiul manometriei. După cum arată şi numele, fie că foloseşte microrespirometre sau macrorespirometre, metoda manometrică se bazează pe determinarea diferenţelor de presiune a gazelor.

Prima descriere a unui aparat ce foloseşte un manometru aparţine lui Russel (1905). Progrese esenţiale s-au realizat ulterior odată cu construirea aparatelor Warburg şi adaptarea lor la studiul microorganismelor din sol (Naumann, 1963; Gilmour şi colab. 1958; Chase şi Gray, 1957; Gamble şi colab. 1952).

Studiile efectuate au arătat însă că nici aceste metode nu sînt lipsite de unele dezavantaje. Principala deficienţă constă în aceea că volumul recipientelor fiind limitat, aparatul Warburg permite numai analiza unor cantităţi mici de sol. Încercările de a mări volumul vaselor de reacţie la 125 ml (Gilmour şi colab., 1958) şi la 200 ml (Lees, 1949) nu au remediat decît în parte acest neajuns.

Prin creşterea cantităţii de pămînt se realizează o grosime mai mare a stratului de pămînt, ceea ce duce la încetinirea schimburilor de gaze (Schwegler, 1957). În plus, chiar în astfel de situaţii, probe de sol de 50 g nu pot fi considerate reprezentative, decît după o prealabilă omogenizare (prin amestecare şi cernere), ceea ce influenţează considerabil atît proprietăţile fizice, cît şi pe cele biologice ale solului.

Folosirea aparatului este mai ales limitată de faptul că durata analizei în timp nu poate depăşi 2—3 ore (Gilmour şi colab, 1958). Mărind durata, iau naştere în aparat alte gaze ca: hidrogen, metan, azot, care evident modifică valorile atribuite consumului de oxigen.

Metodele de determinare a consumului de oxigen pe principiul consumetriei înlătură în mare parte neajunsurile de mai sus. Un tip perfecţionat de aparat bazat pe principiul consumetriei este cel prezentat de Drobnikova şi Drobnik, (1965).

Aparatul permite analiza unei cantităţi mari de sol, pe o perioadă lungă de timp.

O variantă des folosită a acestei metode se bazează pe principiul determinării electrolitice a consumului de oxigen. Aparatul imaginat de Swaby şi Passey este prezentat în figura 18.

Aparatul constă dintr-un vas cu pereţii dubli în care se găseşte proba de sol (A) şi un vas cilindric de măsurat consumul de oxigen. Aparatul lucrează în felul următor: consumul de oxigen al solului determină scă-

Scanned with OKEN Scanner

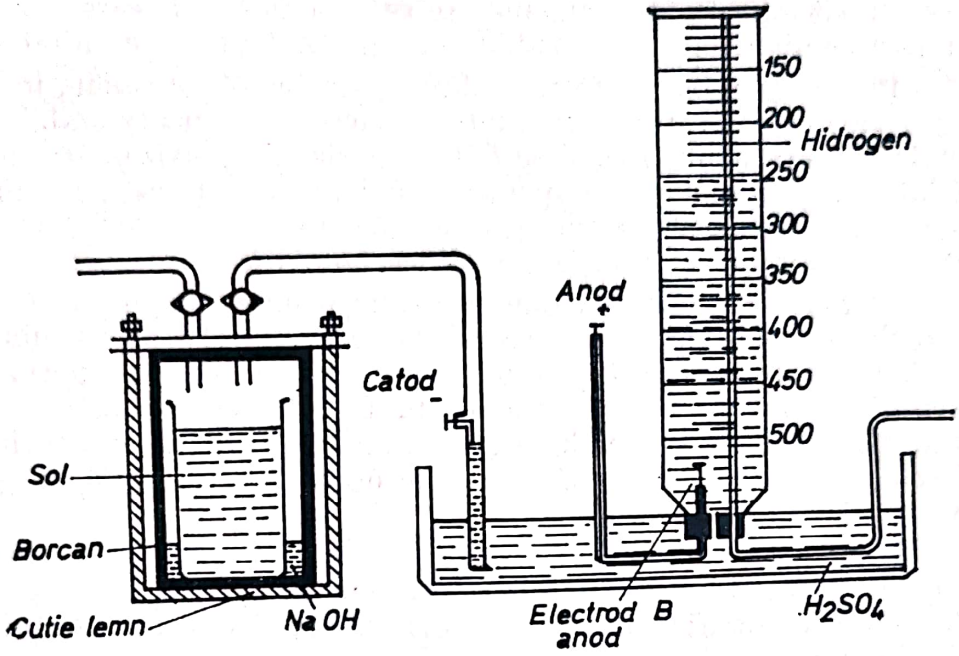


Fig. 18. Respirometru S w a b y, B a v e r l e y şi P a s s e y

derea presiunii şi permite urcarea soluţiei de acid sulfuric din vasul B în ramura laterală şi realizarea contactului electric cu electrodul. Oxigenul generat aici se întoarce în vasul ce conţine solul, restabilind în felul acesta presiunea. Ca urmare, se întrerupe şi contactul la nivelul catodului. Consumul de oxigen nu se poate măsura direct, ci prin volumul de hidrogen colectat la anod în cilindrul de măsurat (C).

5.3. DETERMINAREA CAPACITĂŢII DE NITRIFICARE

Alături de metodele de determinare a respiraţiei solului, de multă vreme se foloseşte şi determinarea capacităţii de nitrificare. Primul care a elaborat un test al nitrificării direct în sol a fost W a k s m a n (1923). Testul se bazează pe mobilizarea biologică a azotului provenit din sol sau din sulfatul de amoniu în cursul incubării în condiţii stabilite de temperatură, umiditate şi aeraţie. Solul se incubează în baloane E r l e n m e y e r şi după scurgerea perioadei de incubare (de obicei 14 zile) se dozează azotul nitric format.

Metoda W a k s m a n a fost folosită în diferite variante. În unele cazuri se recomandă incubarea solului ca atare, în altele adăugarea de 0,2% sulfat de amoniu, în scopul de a determina în primul caz nivelul nitrificării în sol normal, în cel de al doilea caz, efectul pe care-l are asupra nitrificării adaosul de îngrăşăminte amoniacale. Aceasta face ca termenul de „capacitate" să capete un sens mai puţin precis, el însemnînd de la autor la autor, fie „capacitatea microflorei solului de a oxida amoniacul", fie „posibilitatea micropopulaţiei de a mineraliza substanţa organică cu formare de azot amoniacal care este oxidat". Pentru a evita

această situaţie, în prezenta lucrare se specifică în fiecare caz dacă capacitatea de nitrificare este studiată cu, sau fără adaos de sulfat de amoniu.

Prin adăugarea de fosfor solubil şi carbonat de calciu, în comparaţie cu o variantă netratată, cu ajutorul metodei se poate stabili dacă eventuala carenţă a nitrificării se datoreşte slabei aprovizionări cu fosfor sau acidităţii solului. Prin compararea unei variante la care s-a adăugat peptonă, cu o variantă martor, şi alta cu sulfat de amoniu, metoda permite să se examineze şi relaţia amonificare-nitrificare.

În afara metodei Waksman, astăzi o mare răspîndire o are metoda percolării elaborată de Less şi Quastel (1946). Incubarea solului se face în acest caz în tuburi de percolare, ceea ce permite spălarea solului de nitraţi înaintea incubării. În felul acesta azotul nitric determinat la diferite intervale rezultă numai în cursul incubării. Metoda a fost adaptată la determinări de serie de către Stanford şi Hanaway (1955).

Maçura (1965) utilizează pentru studiul nitrificării metoda fluxului continuu, care permite trecerea neîntreruptă a unor cantităţi mici de material nitrificabil prin coloana de sol şi dozarea continuă a nitraţilor formaţi.

Incubarea probelor de sol se face, în general, la 35°C, optimul de activitate a bacteriilor nitrificatoare fiind între 27—37°C (Pochon, 1948). Considerente ecologice au impus scăderea acestei temperaturi în jur de 25°C (Olson şi colab. 1960; Gasser, 1961). Unii autori au propus chiar temperatura de 18°C (Cooke şi Cunningham, 1958), temperatură mai apropiată de cea existentă în sol.

În ceea ce priveşte umiditatea de incubare, s-a recomandat, în general, un nivel de 50—60% din capacitatea totală pentru apă a solului. La metoda Olson se îndepărtează (după percolare) umiditatea în exces prin aplicarea unei sucţiuni de 100 mm coloană de apă. Numeroşi cercetători preferă, din considerente ecologice, incubarea la umiditatea existentă în cîmp. Folosirea acestor procedee s-a dovedit utilă pentru caracterizarea nivelului nitrificării din diferite tipuri de sol (Stanford şi colab., 1974). În R. S. România, cu ajutorul acestor metode s-au pus în evidenţă deosebiri nete între diferite tipuri de sol (Popa şi Silva, 1958; Obrejanu şi colab., 1961; Obrejanu, 1964).

Metodele amintite nu dau însă nici un fel de relaţie cu privire la influenţa aeraţiei şi a raportului aer/apă asupra capacităţii de nitrificare a solului. Pînă în prezent, pentru precizarea acestor relaţii s-a aplicat metoda percolării, folosind un curent continuu de aer cu concentraţii diferite de oxigen. Metoda este însă departe de a da relaţii asupra desfăşurării procesului în condiţii naturale. Hulpoi şi colab. (1967) folosesc pentru precizarea influenţei raportului aer/apă metoda recoltării şi incubării probelor de sol în structura naturală. Cu ajutorul acestei metode s-au obţinut, după cum se va vedea mai departe, rezultate satisfăcătoare cu privire la influenţa unor măsuri agrotehnice ca lucrarea solului şi irigarea, asupra nitrificării din sol.

Scanned with OKEN Scanner

5.4. DETERMINAREA CAPACITĂȚII DE AMONIFICARE

Capacitatea de amonificare a fost, de asemenea, studiată cu ajutorul unui test de incubare a solului compostat cu substanțe organice azotate (făină de soia, făină de sînge, peptonă etc.), dozîndu-se azotul amoniacal difuzat în aer, după metoda propusă de P o c h o n (1954). Metoda este însă deseori afectată de erori însemnate, determinate în principal de pierderile de amoniac în atmosferă.

5.5. DETERMINAREA CAPACITĂȚII DE FIXARE A AZOTULUI

Se realizează printr-un test de incubare a solului compostat cu material energetic (glucoză, manită). Se dozează azotul total înainte și după incubare. Ca grad de precizie, metoda se încadrează între determinarea capacității de nitrificare și cea de amonificare.

H a r d y (1967) pe baza observației că enzima care fixează azotul molecular (nitrogenaza) reduce nu numai acest element, ci și alte clase de compuși, între care acetilena la etilenă, a propus un test bazat pe această reacție. Metoda de determinare a fixării azotului prin aprecierea cantității de etilenă formată a căpătat o mare răspîndire datorită simplității și preciziei sale, (de 10 000 de ori mai precisă decît cea cu ^{15}N), precum și datorită posibilității de a se aplica la sol culturi microbiene și la simbioza *Rhizobium*-leguminoase.

6. ANALIZA ACTIVITĂȚII ENZIMATICE A SOLULUI

Activitatea enzimatică a solului reprezintă o direcție deosebit de fertilă în studiul activității sale biologice.

După cum se știe, enzimele sînt catalizatori organici cu rol esențial în toate fenomenele vitale.

Cataliza enzimatică se caracterizează prin înalta sa specificitate. Această specificitate poate fi determinată de:

— natura legăturii asupra căreia acționează enzima (la enzimele cele mai nespecifice);

— natura legăturii asupra căreia acționează enzima și structura moleculară a unuia sau ambilor componenți implicați în reacție (la enzimele cu înaltă specificitate).

Există totuși puține enzime cu o specificitate absolută (maltaza și ureaza). Cea mai mică modificare a moleculei de uree (de pildă substituirea unui atom de hidrogen cu unul de clor) o face inatacabilă pentru enzimă.

De obicei enzimele sînt proteide (excepție ureaza, o enzimă exclusiv proteică). Specificitatea enzimelor pare a fi determinată de partea sa proteică, deși efectuarea reacției se realizează de către componentul neproteic.

Așa cum s-a arătat, cantități mici de catalizator pot transforma cantități mari de substrat. Aceasta nu exclude însă inactivarea, „otră-

virea" lentă a catalizatorului de către impurităţile uneori neînsemnate ce întovărăşesc inevitabil substratul. Enzimele pot fi mai uşor inactivate decît catalizatorii anorganici, datorită structurii lor mai sensibile.

Cele mai numeroase reacţii enzimatice sînt reacţii de ordinul 0 (la care viteza transformării substratului nu depinde de concentraţia lui) sau de ordinul I (în care viteza transformării substratului este proporţională cu concentraţia enzimei).

Reacţiile enzimatice se caracterizează printr-un optim de temperatură, după care viteza reacţiilor enzimatice începe să scadă datorită inactivării termice a enzimei. În sol, enzimele sînt (în anumite limite) ferite de inactivarea termică, probabil prin adsorbţia lor pe mineralele argiloase (Ensminger şi Gieseking, 1942; Mortland şi Gieseking, 1952). La temperaturi joase enzimele au o mare stabilitate. În funcţie de pH se modifică viteza reacţiei catalizate de enzimă. Enzimele, avînd o natură proteică, îşi schimbă foarte uşor starea de ionizare în funcţie de pH. La pH optim, reacţia catalizată de enzimă este mai rapidă, iar stabilitatea enzimei mai mare.

Primele observaţii privind activitatea catalitică a solului se datoresc lui Liebig şi de Saussure şi datează de la jumătatea secolului trecut.

La sfîrşitul secolului trecut Immendorf (1892) face observaţii despre catalaza din sol, Woods (1899) despre peroxidază. Loew (1901), König (1906) apoi May şi Gile (1909) se ocupă de catalază, în timp ce Cameron şi Bell (1909) studiază peroxidaza. Fermi (1910) descoperă în sol proteaza şi ureaza.

În deceniul al doilea apar primele studii critice de enzimologia solului: Rankova (1913) atrage atenţia asupra interferenţei catalizatorilor anorganici din sol în studiile enzimologice, iar Buddin (1914) critică pretratarea cu toluen a probelor de sol, metodă ce se aplică totuşi şi azi în studiile de specialitate.

Stoklasa (1924) recomandă catalaza ca un indice al activităţii biologice globale a solului. Datorită acestui fapt, în anii următori studierea catalazei este relativ frecventă (Scarrer, 1928; Radu, 1931; Rotini, 1931; Kurtiakov, 1931; Voicu, 1938).

În 1927, Subrahmanian pune în evidenţă în sol dezaminaza.

Ureaza este la rîndul ei studiată sistematic de Rotini (1935) şi de Conrad şi Adams (1940).

Tot Rotini (1935) pune pentru prima dată în evidenţă fosfataza, iar Rogers şi colab. (1940) reuşesc să coreleze activitatea fosfatazică cu intensitatea efectului rizosferic.

Kiss (1961) clasifică enzimele evidenţiate în sol astfel: hidrolaze; transferaze; decarboxilaze; redoxaze.

Clasificarea este acceptată de către Dommergues şi Mangenot (1970) şi cu unele modificări de Skujins (1967). Comisia de enzime a Uniunii internaţionale a biochimiştilor recunoaşte şase clase de enzime şi anume: hidrolaze, transferaze, redoxaze, izomeraze, liaze şi ligaze.

Scanned with OKEN Scanner

6.1. METODICA DETERMINĂRII ACTIVITĂŢII ENZIMELOR ÎN SOL

Mecanismul determinării activităţii enzimelor în sol este destul de simplu. În amestecul de reacţie trebuie să fie prezentă sursa de enzimă, un antiseptic, substratul asupra căruia acţionează enzima şi facultativ o soluţie tampon pentru asigurarea unui pH optim. După o perioadă de incubare, de obicei la 37°C timp de 48 ore (cu variaţii mai ales în ceea ce priveşte timpul), se determină fie dispariţia substratului, fie apariţia unui produs de reacţie.

Ca sursă de enzime poate servi solul ca atare (cel mai adesea), extractul de sol (lichid sau adsorbit pe corpuri poroase de natura argilelor) sau enzime extrase şi purificate.

Pentru a determina acţiunea pe care enzimele o exercită în mod real în sol, trebuie prevenite modificările activităţii enzimatice din cursul prelucrării probelor de sol. Pentru aceasta trebuie blocată înmulţirea microflorei. Blocarea înmulţirii microflorei are un triplu rol:

— să prevină înmulţirea microorganismelor în cursul incubării;

— să prevină asimilarea substratului sau produşilor de reacţie de către microorganisme;

— să prevină sinteza de noi cantităţi de enzime.

Blocarea acţiunii microflorei se poate face prin mijloace fizice sau chimice. Printre mijloacele fizice, des încercat a fost efectul căldurii. Căldura a putut fi folosită cu succes numai în scopul separării acţiunii catalizatorilor enzimatici de cea a catalizatorilor anorganici.

Scharrer (1928) foloseşte pentru prima dată radiaţiile ultraviolete ca agent antiseptic. Metoda a mai fost folosită ulterior cu succes şi de către Dommergues (1960). Este totuşi evident că sînt preferabile radiaţiile ionizante, cu înaltă energie (Dinn şi colab. 1948 şi Mc. Laren şi colab., 1958). În acest scop s-au folosit radiaţiile ^{60}Co, ^{235}U etc. Soluţia nu s-a dovedit însă satisfăcătoare.

Printre agenţii chimici, au fost utilizaţi; oxidul de etilen, cloroformul, eterul (acesta inhibă însă glicindezaminaza), timolul, eterul de petrol, fenolul şi toluenul.

6.2. PRINCIPALELE ENZIME DIN SOL

a. Oxidoreductaze

— *Dehidrogenaza.* Determinarea activităţii acestei enzime nu se poate face respectînd principiile stricte ale enzimologiei solului (blocarea microflorei). Ea constituie un indice al activităţii biologice globale a solului (Skujins, 1967). De fapt este o metodă de determinare a respiraţiei solului (Casida, 1968). Ca urmare, între activitatea dehidrogenazică şi cea respiratorie a solului există o corelaţie foarte strînsă (Dommergues şi Mengenot, 1970; Ross, 1973).

— *Catalaza.* Activitatea catalazei în sol se determină colorimetric (Ştefanic şi Dumitru, 1970) exprimînd intensitatea de descompunere a apei oxigenate care se formează în procesul respiraţiei microorganismelor aerobe. Ea corelează cu cantitatea humusului, pH şi numărul microorganismelor din sol.

Scanned with OKEN Scanner

Peroxidaza şi *polifenoloxidaza* sînt enzime care descompun de asemenea apa oxigenată. Datorită unor dificultăţi de metodică sînt mai puţin studiate în sol.

b. **Transferaze**

Drobnik (1955) demonstrează că amidonul şi maltoza nu sînt numai hidrolizate, ci are loc şi o reacţie de transglucozidare, cu formare de oligozide. Kiss şi Boaru (1965) demonstrează că sub acţiunea levansucrazei în sol se produc levane, produşi cu rol în agregarea solului.

c. **Hidrolaze**

Fosfatazele. Sînt enzime responsabile de eliberarea acidului ortofosforic din combinaţiile sale organice, din pirofosfaţi şi metafosfaţi.

Carbohidrazele. Reprezintă grupul de hidrolaze cel mai intens studiate.

Zaharaza (sucraza, invertaza, β-fructofuranozidaza).

Se determină cantitativ (după cantitatea de glucoză eliberată) titrimetric (Hofmann şi Seegerer, 1950), polarimetric (Kiss, 1957) sau colorimetric (Ştefanic, 1972). Uhtomskaia (1952) extrage enzima din sol după ce Scerbakova şi colab. (1951) reuşiseră să extragă un complex zaharază-amilază.

Activitatea zaharazică este dependentă atît de micropopulaţie cît şi de plantele superioare ce cresc pe solul respectiv. Ciunderova (1968) arată că activitatea zaharazică este bine corelată ($r = 0,84$) cu conţinutul solului în humus.

Activitatea β-glucozidazică se determină (Hayano şi Shiojima, 1974) prin incubare cu p-nitrofenol— d — glucozid, colorimetrîndu-se p-nitrofenolul format.

Maltaza (α-glucozidaza) a fost determinată de Hofmann şi Hoffmann (1953, 1954) pe substrat de maltoză, dozîndu-se glucoza rezultată. Kiss (1961) foloseşte pentru determinarea activităţii maltazei, metoda polarimetrică, sau tehnica cromatografiei pe hîrtie.

Celobiaza (genţiobiaza, emulsina, β-glucozidaza). În tehnica de determinare a activităţii celobiazei se foloseşte ca substrat arbutina (Hofmann şi Hoffmann, 1955) sau salicina.

Amilaza. Pentru determinarea activităţii enzimei se foloseşte ca substrat amidonul solubil (Drobnik, 1955; Hofmann şi Hoffmann, 1955). Zahărul reducător format se determină după metoda Lehmann-Maquenne, în modificarea Schoorl-Regenbogen.

Solul conţine mai mult β decît α-amilază.

Activitatea amilazică creşte proporţional cu conţinutul în humus şi cu capacitatea de schimb cationic.

Celulaza. Activitatea celulazică a fost determinată de către Markus (1955) pe substrat de celofan. Tomescu (1966) foloseşte ca indice pentru aprecierea activităţii acestei enzime, reducerea vîscozităţii unei soluţii de carboximetilceluloză. Kiss şi Drăgan-Bularda (1970) indică o metodă cromatografică de determinare a activităţii celulazei. În acelaşi scop, cercetările recente ale lui Kong şi colab. (1971) propun o metodă colorimetrică, folosind reactivul dinitrosalicilic.

Levanaza. Activitatea acestei enzime se determină cromatografic (Kiss şi Boaru, 1965).

Scanned with OKEN Scanner

Dextransucraza a fost pusă în evidenţă indirect de Kiss şi Peterfi (1961), Ross (1965) şi direct de Drăgan-Bularda şi Kiss (1972).

Xilanaza. Activitatea xilanazei se apreciază folosind ca substrat xilan în soluţie de tampon fosfat cu pH= 6,2 — 6,5 (Sörensen, 1955).

Proteinaze. Activitatea protează se poate determina prin aprecierea scăderii vîscozităţii unei soluţii de gelatină (Kaţnelson şi Erşov, 1958). Ambroz (1971) determină activitatea gelatinazei şi caseinazei, prin determinarea conţinutului în aminoacizi, folosind metoda Pope-Stevens modificată.

Amidaze. Printre amidaze, foarte mult a fost studiată ureaza. Ea s-a determinat fie prin titrarea cantităţii de amoniac produs, fie prin colorimetrarea substratului rămas, cu para-dimetil-amino-benzaldehidă la densitatea optică de 420 mμ.

Activitatea ureazică este considerată un factor important al scăderii randamentului îngrăşămintelor cu uree aplicate în sol. De aceea s-a propus utilizarea de inhibitori ureazici, aşa cum s-au propus şi inhibitori de nitrificare. Se pare că metoda prezintă certe perspective de viitor. Bremner şi Douglas (1971) au testat în acest scop numeroşi compuşi.

Activitatea asparaginazei (Drobnik, 1957) şi *glicindezaminazei* (Subrahmanian, 1927) au fost determinate prin titrarea cantităţii de amoniac ce s-a obţinut după scindarea substratului specific. Chalvignac şi Mayaudon (1971) studiază complexul enzimatic care atacă triptofanul, utilizînd triptofan marcat şi o tehnică radiocromatografică. Încă în 1968 Chalvignac semnalase formarea enzimatică în sol a acidului indolilacetic, pornindu-se de la triptofan.

6.3. ORIGINEA ENZIMELOR ÎN SOL

Calea cea mai uşoară de a explica apariţia enzimelor în sol este desigur acceptarea faptului că numeroasele microorganisme care vieţuiesc şi şi mor în sol, ca şi resturile vegetalelor superioare, eliberează în mediul înconjurător, după autoliza celulelor, enzimele cu care au fost dotate în timpul vieţii.

Dar acceptarea celor de mai sus nu explică o serie de procese biologice din sol, care nu ar putea fi înţelese, dacă nu s-ar accepta şi posibilitatea ca unele enzime să fie eliminate în mod activ de către organismele care trăiesc şi care pentru a trăi au nevoie de substanţe de nutriţie şi energetice asimilabile. Cum ar putea fi explicată descompunerea celulozei şi utilizarea moleculelor de glucoză după aceea în metabolismul diferitelor microorganisme, dacă nu ar exista enzime, care secretate în mediul înconjurător să ducă la îndeplinirea procesului de celuloliză? Într-un mod asemănător se pune problema şi pentru proteinele ajunse în sol după moartea vieţuitoarelor şi care constituie pentru multe microorganisme singura sursă de obţinere a azotului necesar nutriţiei. Microorganismele nu pot ingera particulele de celuloză sau de proteină şi apoi să le descompună în interiorul celulei. Aceste substanţe, ca şi altele de altfel, nefiind solubile nu pot fi direct absorbite în celulele microorganis-

melor. Enzimele care sînt secretate în mod activ de celulele vii au fost denumite exoenzime, acestea fiind capabile să producă reacţii enzimatice specifice în absenţa celulelor care le-au produs.

Exoenzime se găsesc în sol şi ca urmare a activităţii rădăcinilor plantelor superioare (Krasilnikov, 1952; Ratner şi Samoilova, 1955). Kuprevici (1949) semnalează existenţa exoenzimelor eliberate de rădăcinile plantelor (invertază, catalază, fenolază, tirozinază, urează, asparaginază, protează, lipază, amilază şi celulază).

6.4. FACTORII DE MEDIU ŞI ACTIVITATEA ENZIMATICĂ DIN SOL

a. **Reacţia mediului.** Activitatea enzimelor este dependentă în mare măsură de valoarea pH a mediului de reacţie. Cercetările amănunţite de biochimie au reuşit să stabilească domeniul optim de pH în care enzimele prezintă cea mai înaltă activitate, ca şi limitele critice ale existenţei lor active. În sol importanţa reacţiei chimice este cu atît mai mare, cu cît aceasta influenţează nu numai asupra enzimelor ci şi asupra producătorilor acestora. În plus, în funcţie de aciditatea sau alcalinitatea unui sol, se produc modificări importante la nivelul constituenţilor chimici, modificări care duc la eliberarea unor ioni de metale cu acţiune toxică asupra organismelor, sau de inhibare a activităţii enzimatice. Tot în astfel de condiţii se poate produce şi blocarea unor elemente chimice necesare proceselor biologice, imobilizări care duc la limitarea posibilităţilor de nutriţie a microorganismelor şi plantelor.

Cercetînd activitatea zaharazică a sòlurilor acide, ca şi a unui sol neutru şi fertil, Hofmann şi Seegerer (1951) constată că pentru zaharaza solului acid, pH-ul optim este de 4,7 şi pentru solul normal între 5,6 şi 6,1. Ei atribuie aceste caracteristici predominanţei unei zaharaze bacteriene în solul normal şi a unei zaharaze fungice în solul acid. Este de fapt stabilit că în solurile acide, bacteriile nu găsesc condiţii bune de viaţă şi deci nu pot să concureze ciupercile care se pot dezvolta bine şi la pH acid. Condiţiile foarte variate pe care le oferă solul cu privire la compoziţia sa mecanică, ca şi la răspîndirea materiei organice, determină posibilităţi nenumărate ca de la o microzonă la alta să varieze pH-ul solului şi nu numai ca limitare în spaţiu, dar chiar şi în timp. Ca exemplu : acolo unde la un moment dat, ca urmare a descompunerii unor resturi organice bogate în proteină s-a produs o oarecare concentraţie de amoniac alcalinizînd soluţia solului, nu peste multă vreme, datorită activităţii bacteriilor nitrificatoare, amoniacul este transformat în acid nitric, iar soluţia solului devine acidă. Metodele de laborator prin care se determină nivelul activităţii enzimelor, atunci cînd nu se artificializează condiţiile naturale prin folosirea soluţiilor tampon, dau indicaţii despre nivelul de activitate la un pH care de fapt corespunde cu media pH-ului pe microzone.

b. **Factorii fizici ai solului.** În sistemul solului o mare importanţă are efectul de suprafaţă, deoarece argilele, ca şi macromoleculele organice, oferă suprafeţe de contact enorme, cu înalte proprietăţi adsorbtive. Proteinele se adsorb pe argile, iar enzimele în calitatea lor de proteine se comportă ca atare (Ensminger şi Gieseking 1942; Mc.

Laren, 1954; Mc. Laren şi Esterman, 1956) acţionînd în cazul proteazelor la scindarea moleculelor proteice. Cercetări întreprinse încă în 1928 de către Willstäter şi Schneider au arătat că adsorbţia zaharazei provenite de la levuri, pe caolinit, determină o inactivare parţială a enzimei. Conrad şi Adams (1940) au demonstrat acelaşi fenomen în ceea ce priveşte ureaza. Mortland şi Gieseking (1952) cercetînd efectul argilelor asupra hidrolizei enzimatice a fructozodifosfatului, a fitinei, a glicerofosfatului şi lecitinei au ajuns la concluzia că în mare, scăderea activităţii enzimelor cercetate este proporţională cu capacitatea de schimb a argilei, bentonita fiind din acest punct de vedere mai activă decît iliitul, iar acesta mai activ decît caolinitul.

Coloizii solului, în afara faptului că adsorb enzimele pe suprafaţa lor, au şi un efect protector al activităţii lor. Kiss şi Péterfi (1960) au dovedit că acţiunea inhibitoare a unor substanţe ca :dihidrostreptomicina, azotatul de argint şi sublimatul corosiv este deosebit de puternică asupra maltazei în soluţie, comparativ cu aceeaşi enzimă în sol. Analizînd rolul protector al solului faţă de zaharază în cazul unor tratamente cu substanţe inhibitoare (paratoluidină, anilină şi sublimat corosiv), Kiss (1958) consideră că această proprietate se poate explica şi prin capacitatea solului de a adsorbi o parte din cantitatea de substanţe inhibitoare. Prin această explicaţie, autorul nu exclude deloc rolul direct protector al coloizilor solului. Galstian şi Avundjian (1970) au arătat că activitatea dehidrogenazică este localizată aproape exclusiv în fracţia argiloasă a solului.

Restul factorilor de mediu ca: umiditatea, aeraţia, temperatura, conţinutul solului în materie organică şi diferite elemente minerale, plantele şi animalele care populează solul, exercită mai mult o influenţă indirectă, prin intermediul producătorilor de enzime. Fără discuţie, că există limite în care, fiecare din factorii enumeraţi influenţează direct asupra activităţii enzimelor, dar ca ordin de mărime, au fost trataţi numai acei factori care hotărăsc în cea mai mare măsură asupra proceselor enzimatice din sol.

6.5. ROLUL ENZIMELOR ÎN SOL

Cînd se vorbeşte despre activitatea enzimatică a solului se are în vedere, de la bun început, separarea proceselor microbiologice cu participarea nemijlocită a microorganismelor — de cele biochimice ce se petrec în absenţa vieţuitoarelor.

Înseşi metodele de analiză diferă radical şi scot în evidenţă elemente de mare importanţă pentru înţelegerea prefacerilor ce se petrec în sol odată cu acţiunile deliberate ale omului în dorinţa sa de a obţine beneficii mari de la natură. De puţină vreme se acordă o atenţie deosebită activităţilor enzimatice ce se desfăşoară în sol şi metodelor de evidenţiere a acestora. Dacă metodelor microbiologice li se aduceau critici, precum că microorganismele se pot adapta foarte repede la diferite moduri de nutriţie şi prin aceasta declanşează o pluralitate de activităţi, metodele enzimatice prezintă avantajul că reflectă cu mai multă fidelitate capacitatea unui sol de a efectua anumite prefaceri biochimice. Totuşi, datele acumulate pînă

în prezent nu sînt pe deplin satisfăcătoare. Testele biologice şi enzimatice trebuie să oglindească capacitatea de producţie a unui sol, să evidenţieze direcţia proceselor de acumulare şi descompunere a substanţei organice, să reflecte gradul de aprovizionare a solului cu elemente fertilizante sau starea de poluare cu substanţe dăunătoare.

Hofmann şi Bräunlich (1955), Bräunlich (1952), Seegerer (1952) au prezentat numeroase rezultate care atestă că fertilitatea unui sol poate fi apreciată cu mai multă precizie prin determinarea activităţii enzimatice decît prin alte mijloace. Baroccio (1958) afirmă că există o corelaţie semnificativă între activitatea catalazică şi factorii fizici şi chimici asociaţi cu fertilitatea. Kuprevici (1951) consideră că există o relaţie directă între activitatea enzimatică şi fertilitate. Bose şi colab. (1959) afirmă posibilitatea de a folosi activitatea enzimatică, în speţă a zaharazei, pentru estimarea activităţii microbiene şi fertilităţii solului. Alţi autori însă consideră că activitatea zaharazică nu poate constitui un test al fertilităţii solului (Drobnik şi Seifert, 1955). Ştefanic şi colab. (1972, 1973) au pus în evidenţă corelaţii sigure între conţinutul solului în materie organică şi activitatea enzimelor: dehidrogenază, catalază, zaharază, urează şi fosfatază.

Tehnicile diferite cu care se lucrează, în diferitele laboratoare de enzimologie, condiţiile diferite de sol, precum şi modul diferit de exprimare a rezultatelor, creează mari dificultăţi în compararea rezultatelor acumulate pînă în prezent. Desigur că la toate acestea se adaugă şi faptul că este greu de presupus că se poate surprinde caracteristica unui sol cercetînd una sau cîteva activităţi enzimatice luate la întîmplare, sau uneori pe acelea pe care un laborator le cunoaşte mai bine. Este necesar ca în raport cu complexitatea proceselor ce se aşteaptă a se declanşa, ca urmare a intervenţiei unor măsuri ameliorative, să se aleagă şi gama activităţilor enzimatice care să reflecte mai bine procesele din sol, fără a se neglija şi celelalte teste microbiologice necesare pentru întregirea tabloului dinamic al evoluţiei fertilităţii solului.

7. ANALIZA RIZOSFEREI

7.1. METODE FOLOSITE LA CERCETAREA RIZOSFEREI

Cunoaşterea rizosferei plantelor ca un mediu deosebit de favorabil pentru înmulţirea microorganismelor s-a realizat în mod lent în primul sfert al secolului al XX-lea.

După 1929, cercetările asupra rizosferei plantelor s-au înmulţit, acordîndu-se o atenţie deosebită micropopulaţiei solului.

Cercetările lui Starkey (1929), Krasilnikov (1934, 1936), Isakova (1936, 1938), Hulpoi (1936), Linford (1942), Lochhead, (1940), Obrazţova (1936), Stille (1938), Thom şi colab. (1932, 1938), Timonin (1940), Truffaut şi colab. (1930, 1933), West şi Lochhead (1940), Berezova (1941), Tepper (1945), Katznelson (1946) sînt printre cele mai importante şi mai cunoscute din perioada 1930 — 1946, constituind totodată fundamentul

actualei concepţii în dezvoltarea studiului microbiologic al rizosferei plantelor.

a. **Metode directe.** De-a lungul timpului, în cercetarea rizosferei au fost folosite metode directe de observare la microscop a suprafeţei rădăcinilor şi a perilor radicelari (T h o m şi colab. 1932), sau a amprentelor pe lame de contact introduse în sol în imediata apropiere a semințelor (H u l p o i, 1936).

Aceste metode au permis constatarea nemijlocită că în jurul şi pe suprafaţa rădăcinilor se dezvoltă o microfloră mult mai abundentă decît în solul fără rădăcini. Ceea ce constituie o limită a acestor metode este faptul că ele nu pot furniza date despre speciile componente ale microbiocenozelor din rizosferă şi nici informaţii despre activitatea lor biochimică. I s a k o v a (1936, 1938) a căutat să adapteze metoda lamelor de contact, scopului de a obţine informaţii despre grupa fiziologică a diferitelor microorganisme din rizosferă, dar imaginea obţinută referitor la gruparea microflorei a fost neîndoielnic artificializată. Mediile selective folosite la acoperirea lamelor de contact, au creat condiţii parţial diferite de cele naturale din preajma rădăcinilor şi ca urmare şi microflora s-a înmulţit în mod deosebit.

b. **Metode indirecte.** Metodele indirecte, bazate pe tehnica culturilor, au sporit cantitatea de informaţii, prin stabilirea numărului de germeni din rizosferă, comparativ cu cel existent în solul nerizosferic (edafosfera). În plus, acestea au furnizat date despre structura taxonomică a microbiocenozelor, despre grupele morfologice şi de nutriţie prezente în rizosferă, precum şi raporturile cantitative dintre acestea. Cunoaşterea aspectului cantitativ global, precum şi a raporturilor dintre diferitele specii de microorganisme din rizosferă pe de o parte şi din edafosferă, pe de altă parte, a condus la ideea exprimării influenţei pe care o exercită rădăcinile vii asupra echilibrului microbiologic al solului prin noţiunea de „efect de rizosferă" (K a t z n e l s o n, 1946).

Efectul de rizosferă este măsurat printr-un coeficient care rezultă din împărţirea numărului de microorganisme existent în rizosferă (notat cu „R") la cel existent în edafosferă (notat cu „S"). Cu cît valoarea raportului R/S va fi mai mare, cu atît influenţa pe care rădăcinile vii o manifestă asupra microflorei este mai puternică şi din contră, valorile mai mici decît unitatea indică o influenţă de inhibare a înmulţirii unor germeni microbieni din rizosferă.

Calcularea coeficientului de rizosferă presupune raportarea numărului de germeni la unităţi de măsură identice. Raportarea la unitatea de greutate (gram) a fost aleasă just în cazul cînd s-a cercetat efectul de rizosferă prin compararea micropopulaţiei din solul rizosferic cu cea din edafosferă. În acest caz efectul de rizosferă este mai redus, iar în solurile fertile se pune uneori cu greutate în evidenţă. Efectul de rizosferă, cum este şi normal, este exprimat în modul cel mai clar la nivelul suprafeţei rădăcinilor. Cercetările care au urmărit să compare densitatea micropopulaţiei de la suprafaţa rădăcinilor cu cea din solul rizosferei sau chiar din edafosferă folosind ca bază de comparare gramul de rădăcini şi gramul de sol, respectiv centimetrul cub de rădăcini şi de sol, au ignorat faptul că rădăcinile variază ca grosime şi structură morfologică în limite foarte largi de la specie

Scanned with OKEN Scanner

la specie de plantă şi chiar în cadrul aceluiaşi sistem radicular. Una va fi densitatea microorganismelor în gramul de rădăcini bogate în perişori radicelari şi alta cînd rădăcinile sînt lipsite de aceştia.

Cercetările lui Ştefanic (1966) au dus la îmbunătăţirea metodei de determinare a efectului de rizosferă la nivelul suprafeţei rădăcinilor. La baza metodei stă ideea exprimării densităţii micropopulaţiei atît la unitatea de suprafaţă totală de adsorbţie a rădăcinilor, cît şi la unitatea de suprafaţă specifică a solului pe care micropopulaţia se dezvoltă.

7.2. METODE DE DETERMINARE A EFECTULUI DE RIZOSFERĂ

a. **Recoltarea probelor de rădăcină.** Metoda clasică de recoltare a rădăcinilor constă în decuparea unui monolit de sol cu dimensiunile 20 × × 20 × 20 cm, care să cuprindă planta împreună cu rădăcinile. Pentru a avea siguranţa recoltării unor probe reprezentative pentru rădăcini, Ştefanic (1966) a propus tehnica recoltării monolitului numai dintr-o parte a planului de simetrie ce trece prin axul rîndului de plante. În acest fel, la aceleaşi dimensiuni ale monolitului, vor putea fi recoltate şi rădăcini mai tinere de la periferia sistemului radicular, ca în cazul plantelor cultivate la distanţe mai mari între rînduri.

Cercetări recente (Ştefanic şi Dumitru, 1968), au scos la iveală faptul că analiza rizosferei plantelor din cîmp se poate face cu rezultate concludente numai în fazele timpurii de vegetaţie a plantelor, pînă cînd rădăcinile nu depăşesc dimensiunile practice de recoltare ale monolitului. Aceleaşi cercetări au dovedit că analiza efectului de rizosferă, de-a lungul întregii perioade de vegetaţie, se poate realiza în bune condiţii în vasele de vegetaţie, de unde se poate recolta totalitatea sistemului radicular, în orice fază de vegetaţie.

Neglijarea acestor condiţii a condus la aprecieri foarte diferite şi uneori eronate cu privire la mărimea efectului de rizosferă în dinamica dezvoltării plantelor.

b. **Recoltarea probelor de sol.** Probele de sol se recoltează după tehnica indicată la începutul acestui capitol.

c. **Prelucrarea probelor de rădăcini şi sol.** Monoliţii aduşi în laborator sînt cufundaţi în vase cu apă şi menţinuţi astfel cîteva ore, pentru ca solul să se imbibe bine cu apă. Apoi, un curent de apă nu prea puternic se barbotează în vasul în care se află monolitul pînă ce rădăcinile se spală de pămînt. Ultima fază de spălare se realizează pe o sită cu ochiurile de 1 mm. Rădăcinile libere de pămînt sînt clătite de cîteva ori cu apă sterilă şi apoi sînt introduse în plăci Petri, pe hîrtie de filtru, pentru a se scurge apa. Din totalitatea rădăcinilor obţinute, se despart două probe cît mai asemănătoare, din care una va fi folosită pentru analiza microbiologică, iar cealaltă pentru determinarea suprafeţei totale de adsorbţie.

Proba de sol este trecută printr-o sită cu ochiurile de 1 mm care prealabil a fost sterilizată. După o omogenizare minuţioasă executată în condiţii cît mai aseptice cu putinţă, se cîntăreşte o probă de 10 g, care este apoi diluată pînă la diluţia 10^{-6}. Din aceeaşi probă se execută şi determinarea suprafeţei specifice a solului.

Scanned with OKEN Scanner

Proba de rădăcini, în vederea analizei microbiologice, este introdusă într-un mojar sterilizat, care conţine cîteva grame de nisip de cuarţ de asemenea sterilizat. Se triturează cu grijă, fără a zdrobi rădăcinile prea tare şi apoi întreg conţinutul mojarului este trecut într-un balon Erlenmayer ce conţine apă distilată. După agitarea conţinutului, timp de 15 minute, se procedează la diluarea succesivă pînă la diluţia 10^{-6}. Din această diluţie, precum şi din aceea obţinută cu sol, se fac însămînţări pe mediu nutritiv (extract de sol-agar), pentru determinarea numărului total de microorganisme. Pentru studiile de sistematică se fac însămînţări în paralel pe suprafaţa mediului Topping.

Numărătoarea coloniilor microbiene pe mediu nutritiv se face după 7 zile de incubare la termostat la 27°C.

d. Calcularea coeficientului de rizosferă (R : S). În vederea calculului coeficientului de rizosferă (R : S) în zona de la suprafaţa rădăcinilor, Ştefanic (1966) recomandă să se determine mărimea medie a suprafeţei rădăcinilor intrate în analiza microbiologică, precum şi a suprafeţei medii a particulelor de sol din zona neinfluenţată de rădăcini. Determinarea suprafeţei medii a rădăcinilor se face după metoda cu albastru de metilen a lui Kolosov (1962), iar determinarea suprafeţei medii a particulelor de sol, după metoda lui Janert (1953).

După ce s-a stabilit care este suprafaţa medie a unui gram de rădăcini şi cea a unui gram de sol, se raportează numărul de microorganisme găsite într-un gram de rădăcini şi de sol, la un metru pătrat din respectivele suprafeţe.

Numărul de germeni calculaţi ce se găsesc la unitatea de suprafaţă de adsorbţie a rădăcinilor se împart la numărul celor calculaţi la unitatea de suprafaţă specifică a solului analizat. Rezultatul împărţirii (R : S) reprezintă coeficientul de rizosferă folosit ca unitate de măsură pentru stabilirea gradului de influenţare a rădăcinilor vii ale plantelor asupra microflorei din sol. Cu cît coeficientul de rizosferă este mai mare decît unitatea, înseamnă că şi efectul de rizosferă este mai puternic şi invers, cu cît acesta este mai mic decît unitatea şi efectul de rizosferă este mai nefavorabil pentru micropopulaţia solului.

Pentru a ilustra necesitatea calculării numărului de microorganisme la unitatea de suprafaţă, în vederea determinării intensităţii de manifestare a efectului de rizosferă sînt redate în tabelul 8 date extrase dintr-o experienţă efectuată cu mazăre cultivată în vase de vegetaţie.

Tabelul 8

Compararea coeficienţilor de rizosferă la mazăre, determinaţi prin metoda exprimării numărului de microorganisme la unitatea de suprafaţă şi cea a exprimării la unitatea de greutate (după Ştefanic, 1966)

Faza de vegetaţie	Număr de bacterii (mln/g)			Număr de bacterii (mln/m²)		
	Rădăcini	Sol	R/S	Rădăcini	Sol	R/S
45 zile de la semănat	222	148	1,5	438	18	24
Înflorit	310	100	3,1	814	10	81
Coacere	1 816	199	9,1	2 922	20	146

Din exemplul prezentat se constată că prin raportarea la unitatea de suprafaţă de rădăcini şi de sol a numărului de bacterii, se obţin coeficienţi de rizosferă cu valori mai ridicate şi că nu există un paralelism între valorile obţinute în dinamica dezvoltării plantelor cu privire la coeficientul de rizosferă, în cazul cînd se folosesc cele două sisteme de calcul.

De asemenea, necesitatea de a determina efectul de rizosferă la nivelul scoarţei rădăcinii şi nu la o oarecare distanţă de aceasta este demonstrată şi de datele pe care le prezentăm în continuare, extrase dintr-o experienţă efectuată cu mazăre în vase de vegetaţie.

Tabelul 9

Efectul de rizosferă la mazăre, asupra bacteriilor de la suprafaţa rădăcinilor şi în solul din rizosferă (după Ş t e f a n i c, 1968)

Faza de vegetaţie	Zona radicelară (R/S)	Solul din rizosferă (R/S)
45 zile de la răsărit	24	0,9
Înflorit	81	1,0
Coacere	146	1,7

Datele prezentate în tabelul 9 arată în mod concludent că efectul de rizosferă este mai greu sesizabil în solul din rizosferă, deoarece diferenţele privind mărimea populaţiei bacteriene sînt mult mai mici cînd se compară solul din rizosferă cu solul din afara acesteia. Pe de altă parte, este cunoscut faptul că, întinderea zonei rizosferice variază foarte mult în funcţie de diferiţi factori (faza de vegetaţie a plantelor, vigurozitatea cu care acestea se dezvoltă, gradul de umiditate a solului, structura şi textura solului etc.), ceea ce face ca rezultatele ce se obţin cu privire la efectul de rizosferă, cînd determinarea se face la o oarecare distanţă de rădăcină, să varieze foarte mult ca mărime şi să nu permită o comparaţie satisfăcătoare între diferitele variante experimentale cercetate.

Scanned with OKEN Scanner

PROBLEMELE SPECIALE ALE MICROBIOLOGIEI SOLULUI

III. LUCRAREA SOLULUI ŞI MICROORGANISMELE

Lucrarea solului reprezintă una din cele mai vechi activităţi ale omului în agricultură. Totuşi, numai în ultima vreme cercetările întreprinse au reuşit să situeze ştiinţa lucrării solului la nivelul înţelegerii complexe a fenomenelor chimice, fizice şi biologice pe care le influenţează şi de care depinde. Astăzi se admite, în general, că pregătirea solului satisface numeroase necesităţi ale acestuia, legate de însuşirile fizice, care odată schimbate, determină modificări atît în activitatea microorganismelor ce-l populează, cît şi în compoziţia chimică.

1. EFECTUL LUCRĂRII SOLULUI ASUPRA STĂRII SALE FIZICE

Prin starea fizică a solului se înţelege totalitatea condiţiilor de umiditate, aeraţie, temperatură, afînare etc., în care se găseşte acesta. Plantele reacţionează uşor la aceste condiţii. De aceea scopul pregătirii solului este de a-i modifica starea fizică, astfel încît condiţiile amintite să se găsească la nivelul cerinţelor optime pentru creşterea şi productivitatea plantelor. Dar condiţiile fizice din sol, schimbate în urma lucrării, afectează în egală măsură şi viaţa microbiană a solului. Aceste condiţii pot influenţa activitatea microorganismelor fie direct, fie indirect. În această direcţie S e i f e r t (1964) împarte factorii fizici care acţionează asupra microflorei, în factori primari şi factori secundari. Factorii primari includ : umiditatea, temperatura şi aeraţia solului. Ei se numesc factori primari deoarece acţionează nemijlocit asupra microorganismelor. Factorii secundari influenţează microflora prin intermediul factorilor primari. Structura solului, gradul de tasare, porozitatea, aparţin acestor factori secundari.

Efectul lucrării se manifestă în primul rînd prin îmbunătăţirea gradului de porozitate a solului. Porozitatea totală şi repartizarea porilor după mărime sînt parametri importanţi în sol. Porozitatea determină posibili-

Scanned with OKEN Scanner

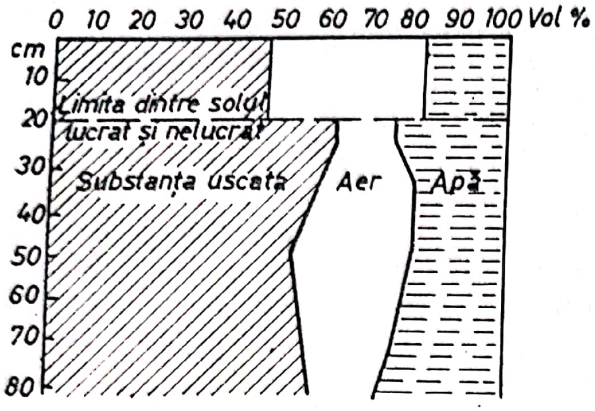


Fig. 19. Gradul de afînare a solului lucrat şi nelucrat (după R i d , 1961)

tatea de acces a gazelor şi, în consecinţă, cantitatea de oxigen prezent, care reglează condiţiile aerobe şi anaerobe, precum şi potenţialul oxido-reducător din micromedii. Porozitatea într-un sol lucrat este importantă nu numai datorită relaţiei sale cu accesibilitatea oxigenului, dar şi pentru că serveşte ca rezervor pentru apa acumulată din precipitaţii.

Porozitatea solului este o însuşire ce prezintă mari variaţii în cursul perioadei de vegetaţie şi în perioada de iarnă. R i d (1961) a semnalat scăderi de 15 — 20 % a porozităţii faţă de valoarea optimă, mai ales la ieşirea din iarnă (fig. 19). Ca o primă consecinţă, în urma lucrărilor din primăvară se remarcă o creştere a volumului total de aer inclus în sol cu cca. 20 — 30 %. Acest fapt determină nu numai posibilităţi sporite de aprovizionare a plantelor cu oxigen, dar permite totodată evacuarea gazelor acumulate în solul nelucrat.

Porozitatea reglează deci concentraţia de aer şi conţinutul în apă al solului şi din acest punct de vedere are o deosebită importanţă nu numai pentru viaţa plantelor, dar şi a microorganismelor. Condiţiile de viaţă ale microorganismelor într-un mediu atît de complex cum este solul sînt asigurate la nivelul celor trei faze : solidă, lichidă şi gazoasă. Microorganismele trăiesc în microhabitate caracterizate prin limite stricte în ceea ce priveşte concentraţia optimă în gaze şi soluţii. Aceste variaţii în conţinutul de apă şi gaze sînt în mare parte reglate de porozitate. H u l p o i şi colab. (1967) au arătat că există o relaţie foarte strînsă între capacitatea de nitrificare şi gradul de tasare, factor secundar care determină în mare măsură şi gradul de porozitate a solului. Din figura 20, care rezumă concluziile acestor cercetări, rezultă existenţa unui domeniu de nitrificare maximă cuprins între valorile de greutate volumetrică de 1,11 — 1,15 g cm^{-3}, cu o scădere accentuată la valorile de 1,35 — 1,40 g cm^{-3}. La nivelele superioare de tasare, nitrificarea decurge cu intensitate slabă, menţinîndu-se la un nivel relativ constant. Aceste date dovedesc prin urmare, că un grad de aeraţie, corespunzător activităţii optime a acestor microorganisme, se realizează numai la nivele de tasare foarte scăzute, deci în soluri cu porozitate mare. Evident, această concluzie are în vedere numai microorganismele cu un pronunţat caracter aerob, aşa cum sînt bacteriile nitrificatoare.

Lucrarea solului urmăreşte în egală măsură reducerea dimensiunilor agregatelor şi bulgărilor de pămînt. Agregatele din jurul rădăcinilor şi seminţelor trebuie să fie îndeajuns de mici pentru a preveni uscarea nedorită a solului şi a asigura un contact suficient între soluţia solului, seminţe şi rădăcini. Trebuie evitată însă divizarea prea fină, încît în astfel de condiţii se favorizează formarea unei cruste tari la suprafaţa solului în cazul uscării. Atît starea de agregare a particulelor, cît şi dispoziţia acestora în sol, au o influenţă deosebită asupra raporturilor de consistenţă şi umidi-

tate din sol. Lucrarea solului în toamnă creează premize pentru o structură granulometrică valoroasă din punct de vedere agronomic. S-a remarcat încă de mult că în urma îngheţului din timpul iernii se regenerează starea fizică dorită a solului arat. În timpul verii, înaintea arăturilor de toamnă, forţele de contact din solurile cu textură fină sînt foarte puternice. În urma lucrării, solul se desface în bulgări mari, din care, în timpul îngheţului de iarnă, apa se retrage, concentrîndu-se în cristale de gheaţă, care divid solul în blocuri mici, neregulate. Prin îngheţ şi dezgheţ repetat, suprafeţele de contact dintre blocuri se micşorează, iar primăvara, bulgării pot fi mai uşor sparţi cu uneltele de pregătire a solului. K o e n i g s (1963) consideră că, cu cît conţinutul de apă este mai ridicat şi viteza de răcire mai mare, cu atît se vor forma mai multe cristale de gheaţă, iar agregatele de sol vor fi mai mici.

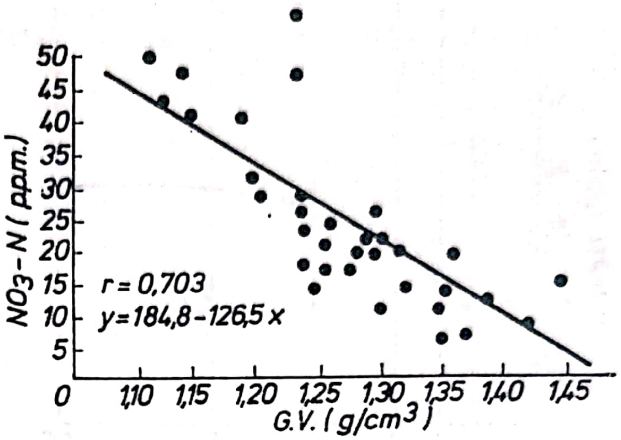


Fig. 20. Corelaţie între greutatea volumetrică a solului şi capacitatea de nitrificare (după H u l p o i şi colab., 1967)

Dimensiunea agregatelor (mărimea) este un element important în complexul factorilor fizici care condiţionează activitatea microorganismelor. În această direcţie, cercetările lui S e i f e r t (1964) au demonstrat că activitatea bacteriilor implicate în mineralizarea substanţei organice se găseşte în proporţie inversă cu dimensiunea agregatelor de sol (fig. 21).

Agregatele solului acţionează asupra activităţii acestor microorganisme prin doi factori : suprafaţa specifică şi prin diametrul agregatului. Deşi se consideră că suprafaţa specifică a agregatului este factorul principal ce influenţează intensitatea proceselor biologice din sol, S e i f e r t consideră că rol deosebit are şi diametrul agregatului. Suprafaţa agregatului este în relaţie directă cu cantitatea de gaze ce intră şi spală interiorul acestuia. Suprafaţa lor este astfel, în mare măsură, un criteriu al aeraţiei şi implicit al nitrificării. Rolul diametrului agregatului rezultă din faptul că el determină distanţa ce trebuie parcursă de gaze în drumul lor în interiorul agregatului.

Vorbind de diametrul agregatelor, trebuie să avem în vedere şi alt factor deosebit de important şi anume umiditatea. Existenţa unei corelaţii inverse între nitrificare şi dimensiunea agregatelor se datoreşte unei deficienţe de aeraţie în spaţiul intern al agregatelor de dimensiuni mari, deficienţă ce poate lua naştere ca rezultat al unui conţinut mare de apă. S e i f e r t arată în această direcţie că agregatele izolate dintr-un sol, de tip rendzină, care arătau o abatere de la liniaritate atunci cînd umiditatea era egală cu de două ori higroscopicitatea maximă, demonstrau o dependenţă liniară de îndată ce conţinutul de apă ajunge la valori mai joase. Scăderea intensităţii nitrificării în astfel de

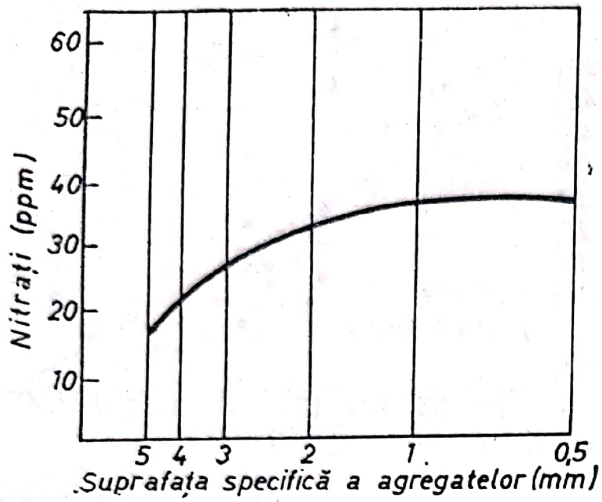


Fig. 21. Intensitatea nitrificării în agregatele de diferite mărimi ale suprafeței specifice (după S e i f e r t, 1964)

condiții se datorește faptului că mișcarea oxigenului în agregatele pline cu apă este de zece ori mai înceată decît în porii plini de gaz.

Studii mai recente intreprinse de H u l p o i și colab. (1967) au demonstrat, de asemenea, relația strînsă dintre aerație, dimensiunea agregatelor și intensitatea nitrificării. Autorii au stabilit că nitrificarea este mai ridicată în agregatele de dimensiuni mici (0,25 mm), în cazul solurilor afînate sau foarte afînate (G.V. = 1,00 — 1,20 g cm^{-3}). Odată cu creșterea gradului de tasare a solului însă, posibilitățile de aerație pe care le oferă agregatele de dimensiuni mari sînt superioare, deci și procesul de nitrificare se desfășoară la un nivel superior.

Cercetările amintite au arătat totodată că suprafața specifică și diametrul agregatelor nu reprezintă singura cauză a diferențierii nitrificării, deoarece particule de sol egale ca dimensiuni cu agregatele mici, provenite prin sfărîmarea agregatelor de dimensiuni mari, nitrifică mai slab (tab. 10). Intervine în acest caz cel puțin o a doua cauză, care trebuie probabil căutată în compoziția chimică diferită a substanței organice. Pentru verificarea acestei ipoteze, H u l p o i și colab. (1970) au efectuat analiza chimică privind compoziția materiei organice a agregetelor de diferite dimensiuni (tab. 11). După cum rezultă din datele obținute, conținutul în humus scade de la fracțiile mici, la cele mari. De asemenea scade cantitatea de azot total.

Rezultă deci că intensitatea procesului de nitrificare în sol nu este determinată numai de condițiile fizice, ci și de compoziția chimică a acestuia, în speță de conținutul de substanță organică.

În plus, se pare că intensificarea procesului de nitrificare în agregatele de dimensiuni mici se datorește și existenței unei microflore mai active.

Tabelul 10

Capacitatea de nitrificare (ppm NO_3) a diferitelor fracții de sol (după H u l p o i și colab., 1970)

Fracția inițială (mm)	Fracția obținută prin sfărimare (mm)			
	2,5–2,0	1,6–1,25	1,00–0,80	0,63–0,40
2,50–2,00	554	613	525	557
1,60–1,25	—	585	620	582
1,00–0,80	—	—	637	597
0,63–0,40	—	—	—	665

Tabelul 11

Conţinutul în substanţă organică a diferitelor fracţii de sol (după H u l p o i şi colab., 1970)

Fracţia de sol (mm)	Humus (%)	N total (%)
2,50—2,00	3,11	0,158
1,60—1,20	3,23	0,157
1,00—0,80	3,29	0,164
0,60—0,40	3,35	0,161
< 0,125	3,51	0,167

Evident că existenţa unor deosebiri, fie de ordin fizic, fie de ordin chimic, între agregatele de diferite dimensiuni este susceptibilă de a provoca diferenţe nu numai în activitatea bacteriilor nitrificatoare, ci şi în ceea ce priveşte activitatea şi numărul altor grupe de microorganisme heterotrofe.

În tabelul 12 se dă numărul total de microorganisme heterotrofe, din care rezultă de asemenea o dependenţă liniară a acestuia de dimensiunea agregatelor. Raportînd numărul de microorganisme la unitatea de suprafaţă, se remarcă că acesta este considerabil mai mare la agregatele de dimensiuni mari. Diferenţierea netă a numărului total de microorganisme pe unitatea de suprafaţă are loc la limita dintre agregatele de 0,4 mm şi cele mai mici de 0,125 mm, adică acolo unde se plasează în mod obişnuit limita între agregatele valoroase din punct de vedere agronomic şi solul nestructurat.

Trebuie însă precizat faptul că valoarea concluziilor obţinute de H u l p o i şi colaboratorii este reală numai pentru condiţii comparabile cu cele abordate în laborator, adică pe soluri foarte afînate. În condiţii naturale, existenţa agregatelor mari, care asigură în mare măsură aeraţia superioară a solului, este o condiţie indispensabilă unei bune nitrificări.

Aerisirea solului, înţelegîndu-se prin aceasta uşurinţa circulaţiei aerului în sol, este una din principalele consecinţe ale lucrării solului. În solul arat, datorită afînării sale, are loc o permanentă circulaţie a aerului. Lipsit de această calitate, un sol care dispune totuşi de rezerve

Tabelul 12

Numărul total de microorganisme (milioane la g sol) în agregatele de diferite dimensiuni (după H u l p o i şi colab., 1970)

Varianta	Dimensiunea agregatelor (mm)				
	2,50—2,00	1,60—1,25	1,00—0,80	0,63—0,40	0,125
Număr total microorganisme	23,4	24,0	25,4	27,6	0,6
Suprafaţa agregatelor (mm^2 pt. g sol)	1,06	1,75	2,77	4,85	40,2
Suprafaţa de sol ce revine unui microorganism (μ^2)	22,1	13,7	9,2	5,7	1,0

Scanned with OKEN Scanner

însemnate de aer, nu poate asigura desfășurarea optimă a proceselor microbiene. Edificatoare din acest punct de vedere sînt cercetările efectuate de H u l p o i și colab. (1967), care au imaginat o experiență în care circulația aerului în probele de sol era stînjenită prin aplicarea unor capace de parafină la capetele cilindrilor metalici în care se făcea incubarea solului. Autorii au arătat că în această situație, chiar la nivele de afînare superioare, lipsa circulației aerului apare ca factor limitativ în activitatea bacteriilor aerobe.

Lucrările de pregătire a solului pot avea o influență mare asupra umidității prin efectele lor asupra infiltrației, scurgerii, acumulării temporare la suprafață, acumulării interne și accesibilității pentru plante. Apa de ploaie, cînd vine în contact cu solul, se poate infiltra, poate fi reținută la suprafață, sau se poate scurge pe pantă. Solurile lucrate au la suprafață un mare număr de pori plini cu aer care absorb repede apa. Dacă suprafața solului a fost mărunțită prea fin prin lucrări, se produce deseori o crustă, în care caz, viteza de infiltrație a apei se reduce. După ce apa pătrunde în sol, viteza de mișcare depinde de caracteristicile interne ale profilului. În majoritatea solurilor, orizonturile care limitează viteza de circulație a apei se găsesc mai jos de adîncimea la care se lucrează solul. Totuși, porii plini cu aer ai stratului lucrat, modificați substanțial prin lucrările de pregătire, determină o porozitate sporită, capabilă să înmagazineze o mare cantitate de apă.

Cantitatea de apă reținută în interiorul solului poate fi influențată de metodele de pregătire, prin modificarea raporturilor de mărime și dispunere a agregatelor.

Posibilitatea ca un sol afînat să piardă prin evaporare mai multă sau mai puțină apă decît un sol tasat, depinde în mare măsură de conținutul de apă din sol. La un conținut de apă relativ ridicat, mișcarea apei spre suprafața de evaporare va fi mai mare într-un sol tasat. La un conținut de apă moderat sau scăzut, evaporarea este mai mare în solurile afînate. În ciuda faptului că într-un sol afînat se produc pierderi mai mari prin evaporare, nu trebuie omis faptul că infiltrarea mai intensă în astfel de soluri, în cazul ploilor torențiale, poate compensa pierderile mai mari prin evaporare din cursul perioadelor de uscăciune.

2. LUCRAREA SOLULUI ȘI MICROORGANISMELE

După cum s-a văzut, prin lucrare, solul dobîndește calități fizice superioare. Concomitent se modifică și condițiile de viață ale microorganismelor. Ca urmare are loc proliferarea abundentă și intensificarea activității lor.

Cercetările (E l i a d e, 1966) au arătat că în solul nelucrat, majoritatea microorganismelor se găsesc răspîndite în stratul superficial și sînt slab distribuite în adîncime (tab. 13). Analizele efectuate pe un sol de tip cernoziom moderat levigat, nelucrat, au scos în evidență că numărul total de microorganisme scade considerabil chiar sub 10 cm. Scăderea se face remarcată la toate grupele principale (bacterii, ciuperci, actinomicete).

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 13

Efectul lucrării solului asupra frecvenţei principalelor grupe de microorganisme (după E l i a d e, 1966)

Varianta	Adîncimea stratului de sol (cm)	Număr total bacterii (mln/g sol)	Bacterii sporulate (mln/g sol)	Ciuperci (mii/g sol)	Actinomicete (mln/g sol)	Microorganisme celulolitice (mii la g sol)
Sol nelucrat	0—10	13,60	2,80	10,0	3,03	3,0
	20—30	0,76	1,60	1,0	0,52	0,0
	40—50	0,41	0,01	1,0	0,17	0,0
Sol lucrat	0—10	14,10	4,10	14,0	9,08	8,0
	20—30	8,21	1,84	23,0	5,54	4,0
	40—50	0,98	0,75	1,8	1,51	1,0

În egală măsură este afectată şi activitatea lor. De pildă, capacitatea de nitrificare reprezintă în stratul de sol sub 10 cm, jumătate din valoarea înregistrată în stratul superficial.

Profilul microbiologic al solului lucrat este cu totul diferit pe măsura analizării straturilor mai profunde. Se remarcă o distribuţie mai uniformă a microorganismelor, precum şi o nivelare a activităţii lor pe adîncime. Importante modificări aduce lucrarea solului şi în compoziţia lor taxonomică. Aceste modificări se referă la schimbarea raporturilor numerice dintre diferitele specii. Astfel T r a n i n a (1960) arată că în solul lucrat creşte, comparativ cu solul nelucrat, frecvenţa următoarelor specii de bacterii nesporogene : *Pseudomonas herbicola*, *Pseudomonas solanacearum*, *Agrobacterium radiobacter*, *Chromobacterium denitrificans*, *Micrococcus flavus*, *Mycobacterium liquefaciens*. De asemenea, bacteriile sporogene prezintă variaţii caracteristice. M e h t i e v (1957) apreciază ca extrem de semnificativă în această direcţie, frecvenţa diferită a două specii de bacterii în raport cu celelalte specii sporogene şi anume : *Bacillus megaterium* şi *Bacillus cereus*. În solul lucrat, valorile procentuale ale numărului de bacterii din specia *Bacillus megaterium*, faţă de numărul total de bacterii sporogene, sînt de 23,3 — 41,2 %, iar în solul nelucrat, de 0,2 — 5,7 %, în timp ce pentru *Bacillus cereus*, aceste valori sînt de 2,8 — 13,4 % şi respectiv 31,7 — 52,8 %. Rezultă deci, că lucrarea solului determină creşterea numărului de bacterii aparţinînd speciei *Bacillus megaterium* şi scăderea numărului celor din specia *Bacillus cereus*. Acest fapt are o semnificaţie agronomică deosebită, avînd în vedere rolul pe care îl are *Bacillus megaterium* în mobilizarea unor elemente nutritive în sol, în elaborarea unor stimulatori de creştere şi în procesul de mineralizare a humusului.

Sînt semnalate modificări şi în repartiţia diferitelor specii de microorganisme celulolitice (E l i a d e , 1964 ; 1966). În urma afînării solului se constată creşterea proporţiei celor mai active specii, aparţinînd mai cu seamă genului *Cytophaga* şi *Cellvibrio*. Aceasta demonstrează că în solul lucrat, descompunerea celulozei decurge cu intensitate mai mare, ceea ce stimulează la rîndul său şi activitatea altor grupe de microorganisme.

Scanned with OKEN Scanner

Ciupercile microscopice sînt, de asemenea, influenţate de lucrarea solului. K l e v e n s k a i a (1960) arată că în solul arat sînt mai numeroase ciupercile din genul *Mucor*, *Stachybotrys* şi într-o măsură mai mică reprezentanţii genului *Penicillium* şi *Aspergillus*. Unele specii ale genului *Alternaria* şi *Fusarium* nu s-au mai întîlnit după ce solul a fost lucrat.

2.1. EPOCA DE LUCRAREA SOLULUI ŞI MICROORGANISMELE

Momentul lucrării solului depinde de o serie de condiţii. Probleme speciale cum ar fi : combaterea buruienilor, pericolul eroziunilor, evacuarea sau conservarea apei, pot constitui elemente dominante în alegerea momentului în care trebuie executată lucrarea. Intervin desigur şi alţi factori, cum ar fi : climatul, relieful sau tipul de sol local. Practica îndelungată a lucrării solului a permis fundamentarea unor concluzii în ceea ce priveşte avantajele arăturii de toamnă, datorită unor atribute pe care le vom expune pe scurt în cele ce urmează.

În primul rînd lucrarea de toamnă permite afînarea superioară a solului. Aceasta se datoreşte, după cum s-a mai arătat, variaţiilor de temperatură din timpul iernii, care prin acţiunea de îngheţ-dezgheţ, asociată cu cea de umectare-uscare, contribuie la mărunţirea bulgărilor de pămînt. Prin arătura de toamnă se realizează mărunţirea bună, chiar şi a solurilor grele, în care caz, arătura de primăvară se arată insuficientă.

În al doilea rînd, prin arătura de toamnă se previne evaporarea apei din sol la sfîrşitul verii şi începutul toamnei în regiunile în care volumul cel mai mare de precipitaţii cade în toamnă, iarna şi la începutul primăverii. Lucrarea de toamnă permite să pătrundă apa mai uşor în sol şi să fie mai bine înmagazinată, pînă în momentul folosirii ei de către plante. Bulgării de pămînt rezultaţi în urma arăturii de toamnă, au în plus tendinţa de captare şi de reţinere a zăpezii antrenate de vînt, ceea ce asigură şi o distribuţie mai egală a apei provenită din zăpadă.

Lucrarea de toamnă nu creează numai premizele pentru acumularea precipitaţiilor din timpul iernii şi a apei din topirea zăpezii, ci şi o zvîntare timpurie, făcînd posibilă efectuarea mai devreme a lucrărilor de primăvară. Cu cît terenul arabil rămîne mai mult timp nearat, cu atît mai mult vor fi inhibate procesele biologice şi, în consecinţă, cu atît mai mult vor fi diminuate producţiile.

Efectul bun al lucrării de toamnă a solului se resimte şi în frecvenţa şi activitatea microorganismelor. Cercetările efectuate de E l i a d e (1966), pe un cernoziom moderat levigat, au arătat într-adevăr că pentru majoritatea microorganismelor efectul arăturii de toamnă este stimulator. Fac excepţie unele grupe de microbi a căror strictă specializare reclamă condiţii de altă natură decît cele realizate prin lucrarea de toamnă.

Analizîndu-se probe de sol provenite din parcele lucrate în toamnă, comparativ cu probe dintr-un sol lucrat în primăvară (G h e o r g h i a d e şi colab. 1966), s-au constatat în primul rînd variaţii semnificative ale intensităţii nitrificării. Astfel, la sfîrşitul lunii martie, înaintea arăturii de primăvară, activitatea bacteriilor nitrificatoare este mai intensă în varianta

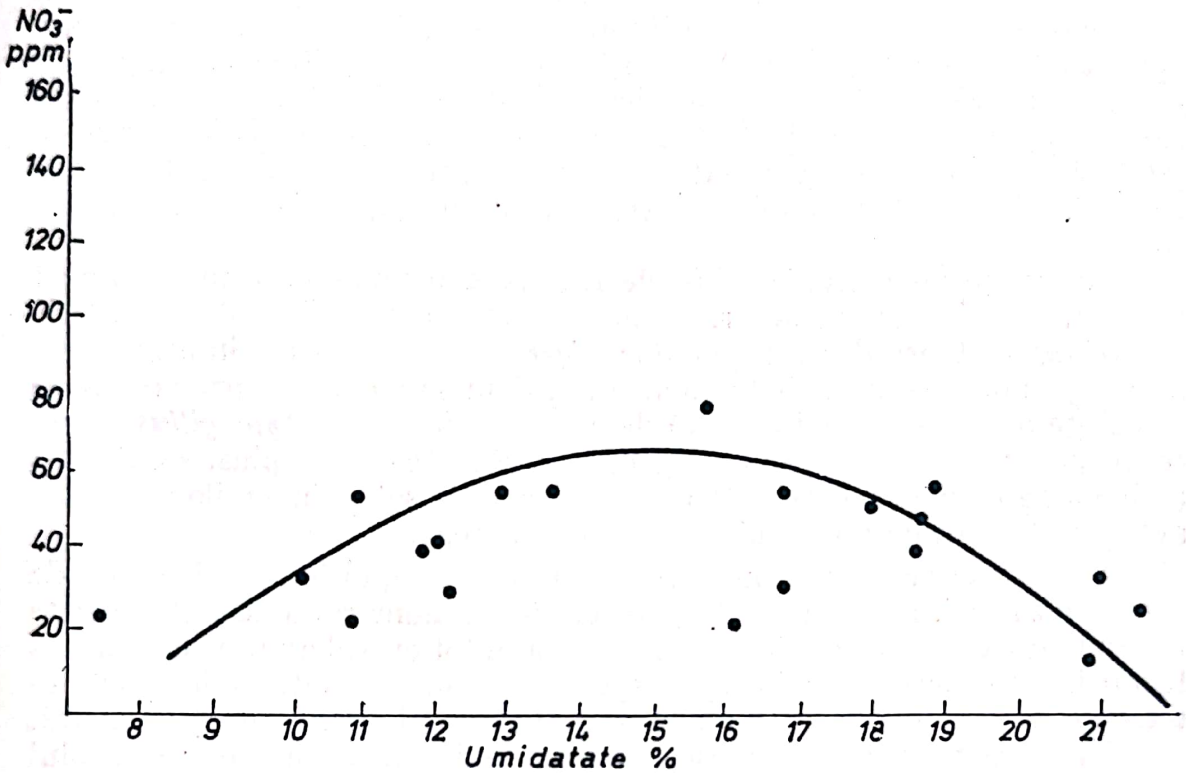


Fig. 22. Corelaţia între capacitatea de nitrificare a solului şi umiditate (după Gheorghiade şi colab., 1966)

arată de toamna. Modificarea intensităţii nitrificării în funcţie de momentul efectuării lucrării se corelează pozitiv cu gradul de afînare a solului, la rîndul lui modificat. Astfel, nitrificarea înregistrează valori mai ridicate în probele de sol cu valori de greutate volumetrică mai scăzută, caracteristice variantei arată toamna şi mai scăzute în probele de sol tasate, recoltate din terenul ce urmează a fi arat primăvara. Nu întotdeauna este însă posibilă stabilirea unei relaţii directe între nitrificare şi gradul de tasare a solului. Astfel de situaţii se întîlnesc în special în timpul lunilor de vară şi spre sfîrşitul perioadei de vegetaţie. În aceste perioade, apa din sol este aceea care reglează intensitatea proceselor microbiene şi sub acest aspect conţinutul mai ridicat în apă, întîlnit în variantele lucrate în toamnă, este factorul care determină în esenţă o activitate sporită a bacteriilor nitrificatoare (fig. 22). De aici se desprinde concluzia că activitatea microbiană a solului este limitată în fiecare moment de acel factor care se găseşte la cel mai scăzut nivel, în raport cu necesităţile microorganismelor. Astfel, în primăvară, deşi umiditatea solului prezintă valori diferite între cele două epoci de lucrare a solului ea se situează în ambele cazuri la nivelul cerinţelor optime ale microorganismelor şi nu influenţează decît într-o mică măsură activitatea lor, care depinde în principal de gradul de tasare. În vară, cînd umiditatea se situează la un nivel scăzut, variaţiile ei determină modificări în activitatea microbiană a solului, deşi şi în această perioadă există diferenţe între cele două variante în ceea ce priveşte gradul de tasare.

Numărul total de microorganisme suferă modificări neînsemnate în funcţie de epoca de pregătire a solului. Este totuşi un aspect relativ, care apare ca urmare a influenţei în sensuri opuse asupra multiplicării diferitelor grupe de microorganisme din sol, determinate cantitativ prin acest indice global care este numărul total. Existenţa în sol a numeroase grupe de microbi, de o extremă varietate în ceea ce priveşte cerinţele trofice şi condiţiile fizice din mediul în care trăiesc, justifică apariţia unor asemenea situaţii.

Ciupercile microscopice sînt, de regulă, mai numeroase în solul arat toamna. Are loc în primul rînd proliferarea ciupercilor din genurile *Fusarium* şi *Aspergillus*. *Aspergillus niger* este specia care imprimă proporţia genului în solul arat toamna. În variantele lucrate în primăvară, se întîlneşte o proporţie mai ridicată de ciuperci din specia *Aspergillus ochraceous*, precum şi unele specii ale genului *Trichoderma*. În plus, s-a descris (Gheorgiade şi colab., 1966) acumularea în sol a ciupercilor puternic antagoniste faţă de unele microorganisme patogene.

Actinomicitele variază numeric în limite strînse, în funcţie de epoca de lucrare a solului. Există o tendinţă de creştere a numărului de actinomicete în solul arat toamna, tendinţa care persistă în tot cursul anului ce urmează lucrării. Nu se poate vorbi despre specii sau grupe de actinomicete caracteristice solului lucrat în toamnă sau pentru cel lucrat în primăvară.

Microorganismele celulolitice sînt de obicei mai numeroase în solul arat toamna. Acest fapt se datoreşte în primul rînd înmulţirii intense a ciupercilor celulolitice din genul *Stachybotrys*. La rîndul lor aceste ciuperci sînt în strînsă legătură cu intensitatea nitrificării, mai ridicată în varianta arată toamna.

2.2. ADÎNCIMEA DE LUCRARE A SOLULUI ŞI MICROORGANISMELE

Adîncimea la care se efectuează lucrarea solului depinde de numeroşi factori, dintre care principalii sînt : tipul de sol, grosimea stratului arabil, cantitatea de îngrăşăminte organice şi minerale de care dispunem, planta de cultură etc.

Cercetările întreprinse în această direcţie şi rezultatele obţinute au dat naştere uneori la interpretări diametral opuse. Pentru o prezentare obiectivă a principalelor opinii, le vom expune pe fiecare din ele în mod separat.

O parte din cercetări a arătat că arătura adîncă asigură, de regulă, o mai bună valorificare a potenţialului de fertilitate a solului. Se apreciază că în urma arăturii la adîncime, solul capătă însuşiri de fertilitate superioare datorită în primul rînd modificării structurii sale. Are loc o răsturnare de straturi, prin aducerea stratului inferior la suprafaţă. După aprecierea multor specialişti, stratul inferior ar prezenta din punct de vedere agrochimic calităţi superioare datorită conţinutului mai ridicat de agregate structurale. Trebuie arătat în acest sens că pe terenurile cultivate mai mulţi ani şi lucrate superficial, s-a remarcat înrăutăţirea structurii stratului de la suprafaţă, (Burnatki şi Iarovenko, 1961). Datele pre-

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 14

Cantitatea de agregate stabile (%) în funcţie de lucrarea solului (după Burnatki şi Iarovenko, 1961)

Adîncimea stratului de sol (cm)	Dimensiunea agregatelor (mm)		
	< 1,00	1,00–0,25	suma
Pîrloagă necosită			
0–10	77,5	12,7	90,2
10–20	74,5	15,8	90,3
20–30	68,5	20,3	88,8
30–40	63,5	22,9	86,1
Solă cu ierburi perene			
0–10	16,7	52,9	69,6
10–12	27,4	44,6	72,0
20–30	58,5	23,2	79,1
30–40	54,0	29,7	83,7
Cîmp cultival mulţi ani			
0–10	8,1	47,5	55,6
10–20	13,6	48,0	61,6
20–30	33,0	38,3	71,3

zentate în tabelul 14 arată că în solul nelucrat, numărul de agregate mai mari de 1 mm, valoroase pentru fertilitatea solului, este mult mai mare în stratul superior al solului (0–20 cm) comparativ cu cel inferior (20–40 cm). Pe terenurile lucrate, suma glomerulelor structurale din stratul inferior a fost mai mare cu 14 — 16% faţă de stratul superior.

Datorită îmbunătăţirii structurii, este posibilă realizarea unei porozităţi ridicate ce favorizează pătrunderea apei de precipitaţii în straturile mai adînci ale solului. Scad în acest fel posibilităţile de pierdere a apei prin evaporare.

Deosebit de important s-a presupus a fi rolul arăturilor adînci pentru combaterea buruienilor. De obicei, înaintea lucrării solului, cea mai mare parte a seminţelor de buruieni se găseşte răspîndită în stratul superior. Prin arătura adîncă, periodică, aceste seminţe ajung la adîncimea, de unde nu mai pot răsări. În felul acesta gradul de îmburuienare este mult diminuat.

Regimul nutritiv al solului se modifică, de asemenea, în funcţie de adîncimea de lucrare. La solurile obişnuite, orizontul de humus se întinde de obicei pînă la adîncimea de 50–60 cm. Deşi conţinutul de humus descreşte cu adîncimea, această descreştere nu are importanţă pentru stratul amintit. Burnatki şi Iarovenko (1961) au găsit în stratul de la

0—20 cm al unui sol cernoziom un conținut în humus de 8,75% iar în stratul de la 20—40 cm, de 8,70%. În același timp, conținutul de azot total a fost egal cu 0,45% și respectiv 0,41 %. Proporții similare s-au înregistrat și în ceea ce privește conținutul de azot mobil (468 și respectiv 426 ppm). În felul acesta s-a considerat că adîncirea stratului arabil pînă la 40 cm nu reduce conținutul total în elemente nutritive din sol. Totuși stratul subarabil se caracterizează printr-o activitate biologică mai redusă, procesele microbiologice în urma cărora apar forme mobile de substanțe nutritive pentru plante sînt aici mai puțin intense. Din acest punct de vedere scoaterea la suprafață a solului din acest strat poate la început să întîrzie acumularea elementelor mai accesibile plantelor, întrucît cantitatea relativă a microorganismelor în straturile inferioare este mai mică. Cercetările întreprinse în această direcție au arătat că la începutul vegetației, în stratul 0 — 20 cm pe fondul unei arături adînci, se acumulează cantități mai mici de nitrați decît în cazul unei arături obișnuite. Ulterior însă, conținutul în nitrați în acest strat se nivelează pe cele două fonduri de arătură.

Mai trebuie amintit rolul arăturilor adînci în procesul de conservare a apei în sol. Apa de precipitații poate fi conservată în sol numai în profunzime, unde este ferită de acțiunea soarelui și a vîntului. În regiunile umede, lucrarea adîncă nu este recomandabilă din acest punct de vedere, însă în regiunile cu perioade mari de secetă ea poate fi recomandată.

Alte cercetări contestă eficacitatea arăturilor adînci, considerîndu-le chiar dăunătoare (Pfeiffer, 1964; Mc Calla și colab., 1964; Mișustin, 1964).

Este bine știut că în stratul superficial al solului se găsește cea mai mare cantitate a microorganismelor și tot aici se desfășoară și activitatea biochimică cea mai intensă. Această situație este strîns corelată cu accesibilitatea aerului în stratul superficial al solului. Prin arătura adîncă, acest strat activ biologic este introdus la 25—35 cm adîncime, unde pătrunderea aerului este mult diminuată. Resturile vegetale și îngrășămintele organice se descompun în condiții de anaerobioză, rezultînd din activitatea microorganismelor, produși metabolici toxici pentru plante. În condițiile de umiditate crescută, apariția substanțelor fitotoxice se accentuează (Welbank, 1969). Simultan se scot la suprafață semințe de buruieni cu mare persistență în sol, ceea ce duce la îmburuienarea culturilor. Solul structurat din profunzime este adus la suprafață și supus acțiunii mineralizante a microorganismelor. Acestea descompun humusul — liantul ideal al agregatelor de sol — contribuind la deprecierea structurii solului. Aprecierea justă a avantajelor și dezavantajelor pe care le oferă fiecare din cele două procedee de lucrare a solului a determinat o a treia grupă de cercetători să recomande în vederea asigurării unei bune afînări și unei mai ridicate permeabilități pentru apă a solului, odată la 3—5 ani, simultan cu arătura superficială un subsolaj la 50 cm adîncime.

Scanned with OKEN Scanner

Supunînd aceste orientări agrotehnice criteriului microbiologic de apreciere a stării de fertilitate a solului, se constată că prin arătura adîncă se favorizează intensificarea proceselor microbiologice în toată masa stratului arabil. Aceasta duce la o hrănire mai substanţială a plantelor şi la recolte sporite. Treptat însă, solul suferă o degradare a rezervelor de humus, se strică structura (mai ales în condiţiile de irigaţie) şi ulterior se plafonează producţiile agricole.

În lumina celor mai sus arătate se poate aprecia că numai cu condiţia menţinerii unui raport echilibrat între descompunerea resturilor organice sau îngrăşămintelor organice pe de o parte şi sinteza şi descompunerea humusului pe de altă parte, se poate asigura solului o evoluţie şi o fertilitate ridicată permanentă.

2.1.1. Infuenţa adîncimii arăturii asupra numărului total şi activităţii globale a microorganismelor

Majoritatea cercetătorilor sînt de acord că adîncimea la care se face arătura determină schimbări caracteristice în frecvenţa, activitatea şi compoziţia sistematică a microorganismelor. Astfel Ciulakov (1960) demonstrează că numărul total de bacterii înregistrează variaţii caracteristice în funcţie de adîncimea la care este lucrat solul, după cum caracteristică este şi valoarea raportului dintre acestea şi numărul de bacterii anaerobe din sol (tabelul 15). Afînarea la suprafaţă, realizată prin discuire, intensifică în mare măsură multiplicarea microorganismelor numai pe stratul superficial (5—7 cm) pe o perioadă scurtă de timp. Autorul consideră că afînarea superficială sau chiar profundă a solului este insuficientă pentru proliferarea microbilor, deoarece nu duce la mobilizarea substanţelor nutritive din stratul de sol situat mai în profunzime, care posedă un grad mai înalt de fertilitate.

Cu totul alte rezultate se obţin la o arătură normală sau adîncă a solului cu întoarcerea brazdei. În acest caz creşte numărul şi activitatea microorganismelor atît în stratul inferior al solului adus la suprafaţă, cît şi în stratul care i-a luat locul. În astfel de cazuri se remarcă şi scăderea numărului de bacterii anaerobe.

Este însă cu totul eronat a se trage concluzia că modificările ocazionate de adîncirea stratului arabil sînt identice în orice condiţii de experimentare. În această direcţie, numeroşi cercetători consideră tipul de sol ca element hotărîtor care diferenţiază cantitatea şi activitatea microorganismelor. Conţinutul în substanţă organică, reacţia mediului, starea fizică şi în general toate particularităţile fizico-chimice care caracterizează un tip de sol, răspund într-un anumit fel măsurilor agrofitotehnice aplicate, determinînd particularităţi şi în comportarea factorului biologic. Aceasta este explicaţia unor concluzii de multe ori contradictorii în experienţe, în care interpretarea rezultatelor nu s-a făcut în strînsă legătură cu proprietăţile solului.

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 15

Influența lucrării solului prin diferite procedee asupra frecvenței microorganismelor (după Ciulakov, 1960)

Varianta	Adîncimea de recoltare (cm)	Număr total de bacterii (mln. la g sol)	Bacterii anaerobe (mln. la g sol)
Sol discuit	0— 7	10,8	32,8
	7—14	4,5	18,1
	14—22	2,8	12,6
	22—30	3,0	8,7
Sol afînat adînc	0— 7	6,8	28,3
	7—14	4,1	16,2
	14—22	3,7	14,5
	22—30	2,9	12,4
	35—45	1,8	8,8
Sol arat normal	0— 7	5,8	29,3
	7—14	5,8	24,0
	14—22	4,4	21,4
	22—30	1,9	10,5
Sol arat adînc	0— 7	7,1	28,0
	7—14	5,0	21,6
	14—22	3,2	16,7
	22—30	2,6	14,6
	35—45	1,5	11,0
Sol înțelenit	0— 7	4,8	19,6
	7—14	2,5	13,6
	14—22	1,7	9,4
	22—30	1,5	8,1

În legătură cu această problemă, Afanasieva (1960) consideră că efectul arăturii este determinat în primul rînd de grosimea stratului de humus al solului. Autorul a constatat că arătura adîncă duce la creșterea activității biologice din sol numai atunci cînd există un strat de humus puternic dezvoltat (0—40 cm). Concluzii asemănătoare, sprijinite pe date experimentale, au fost obținute de Fatahova (1960) care arată că pe un sol de tip podzolic, cu orizont de humus slab dezvoltat, diferențele în ceea ce privește eficacitatea arăturii adînci față de cea superficială sînt neînsemnate.

Trebuie arătat însă că în afara cercetărilor ce confirmă dependența dintre efectul arăturii adînci asupra creșterii numărului de microorganisme și cantitatea de humus din sol, sînt și cazuri (Kiseleva și Paleț-kaia, 1960; Krzysch, 1964) în care s-a demonstrat că în unele soluri, cu conținut sărac în humus, arătura adîncă determină un conținut mai bogat în microorganisme în stratul profund al solului. După Vostrov și Petrova (1961), însă creșterea numărului de microorganisme în astfel de cazuri nu aduce după sine și creșterea activității bio-

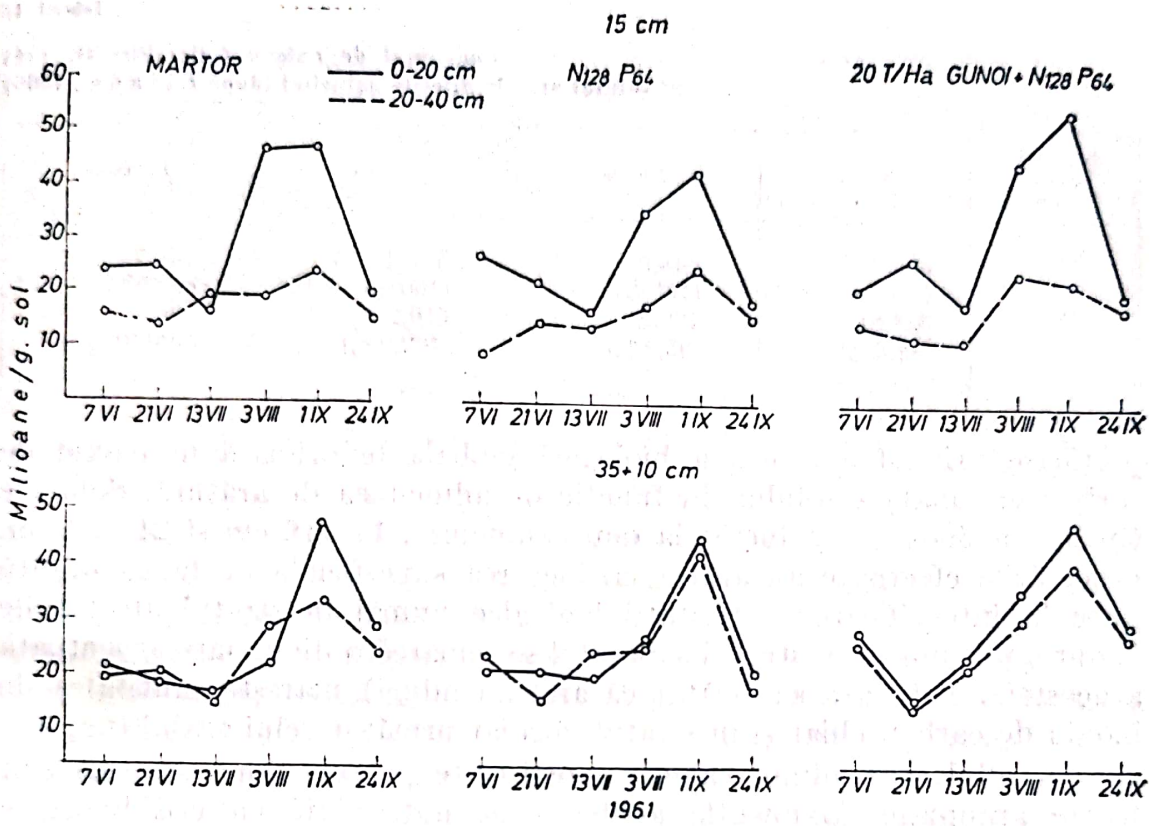


Fig. 23. Influenţa adîncimii de arătură asupra numărului total de microorganisme pe un cernoziom mediu levigat (după E l i a d e, 1966)

logice a solului. Proporţia mare de microorganisme în straturile profunde s-ar datora amestecului parţial cu straturile superioare mai bogate în microbi. Aceştia ajunşi în profunzime, rămîn multă vreme în stare de inactivitate.

În experienţe efectuate pe un cernoziom moderat levigat, caracterizat printr-un conţinut de humus de 3—3,5%, răspîndit omogen pe primii 40 cm, E l i a d e (1966) arată că în primii trei ani de la începerea experienţei, numărul total de microorganisme a fost în stratul de 20—40 cm al variantei de arătură la 35 cm mai mare, decît în stratul corespunzător al variantei arate la 15 cm (fig. 23). Determinările privind consumul de oxigen au demonstrat însă că în anumite limite, efectul stimulator al arăturii adînci este aparent, întrucît activitatea biologică globală a microorganismelor nu diferă de la o variantă de lucrare la alta (tab. 16). În solul arat adînc (35 cm) se remarcă o tendinţă de intensificare a proceselor respiratorii, evidentă numai spre sfîrşitul perioadei de vegetaţie. Concluzii asemănătoare procură şi datele privind activitatea unor enzime ca: zaharaza, catalaza şi proteaza. Activitatea acestor enzime este practic identică în cele două variante lucrate la adîncimi diferite.

Experienţe efectuate pe o perioadă mare de timp de către T a m m şi K r z y s c h (1964) la staţiunea Dahlem, dau indicaţii deosebit de

Tabelul 16

Consumul de oxigen (microlitri O_2 /oră) al solului arat la diferite adîncimi (după E l i a d e , 1966)

Adîncimea arăturii (cm)	8 mai	1 iunie	13 iulie	1 august
15	398,4 (100 %)	448,9 (100 %)	597,8 (100 %)	749,7 (100 %)
35	328,8 (98,8 %)	428,2 (95,4 %)	610,2 (102,2 %)	796,7 (106,3 %)

prețioase privind activitatea biologică globală (exprimată în bioxid de carbon eliminat) a solului, în funcție de adîncimea de arătură. Solul de tip luto-nisipos a fost lucrat la două adîncimi : 14—16 cm și 24—26 cm. Cercetările efectuate au arătat că lucrarea superficială de lungă durată duce la intensificarea activității biologice numai în stratul afectat de lucrare, în timp ce în stratul subarabil se remarcă o diminuare accentuată a acesteia. Totodată s-a arătat că arătura adîncă mărește cantitatea de bioxid de carbon chiar și în stratul imediat următor celui arabil (fig. 24).

În solul arat adînc, valorile înregistrate pe cele două straturi sînt foarte apropiate. Explicația atribuită de autori diferențierii biologice în funcție de cele două adîncimi de arătură, nu face decît să confirme cele spuse anterior și anume că ea se datorește condițiilor fizice ale solului, schimbate în mod diferențiat de adîncimea de arătură. Autorii își sprijină explicația pe concluzii anterior formulate, conform cărora, în stratul din adîncime al solului lucrat superficial apare o scădere a volumului de pori și dublarea compactității. În aceleași experiențe s-a demonstrat și faptul că arătura adîncă favorizează activitatea biologică a solului și în condițiile încorporării de îngrășăminte. În condițiile experimentării de la Dahlem, gunoiul de grajd a favorizat producerea de bioxid de carbon atît în stratul superficial, cît și în stratul din profunzime al solului arat adînc.

Experiența cu lucrările solului a cărei rezultate de început au fost deja discutate (E l i a d e, 1966) a fost reluată în analiză după 8 ani. Noile rezultate obținute au permis autorilor (Ș t e f a n i c și colab., 1972) să constate că după cîțiva ani de stimulare a activității biologice în solul arat adînc la 35 cm, situația s-a schimbat în favoarea arăturii superficiale (tab. 17). Conținutul în carbon total — pe grosimea stratului de sol de 40 cm — este mai mare în solul arat la 15 cm și 25 cm. Scăderea conținutului în carbon total în solul arat la 35 cm este explicabilă prin intensificarea proceselor de mineralizare în primii ani de experimentare. Reducerea cantității de material energetic a determinat o reducere a activității microbiene a solului, fapt care se oglindește în activitatea bacteriilor nitrificatoare și în activitățile enzimelor din sol. Trebuie men-

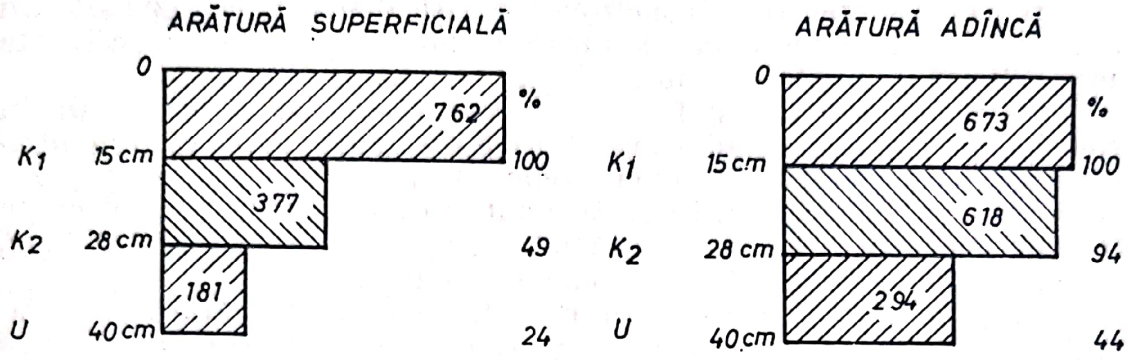


Fig.24. Influenţa adîncimii arăturii asupra intensităţii activităţii biologice a solului (mg. CO_2 la 100 g sol) — după T a m m şi K r z y s c h, 1964

ţionat însă că în toţi cei opt ani de experimentare nu s-a efectuat nici o lucrare de afînare a stratului subarabil în arătura de 15 cm, ceea ce apare ca necesar, deoarece reţinerea apei în sol se face cu dificultate. Prin urmare, cînd se discută despre tipul de arătură care contribuie la o activitate biologică normală într-un sol şi care să asigure fertilitatea de durată a solului, nu trebuie opusă arătura adîncă celei superficiale deoarece în acest caz arătura superficială după cîtva timp (în funcţie de permeabilitatea naturală a solului) devine nesatisfăcătoare. Arătura superficială, sau orice lucrare superficială a solului, trebuie însoţită din cînd în cînd de o afînare profundă, capabilă să asigure permeabilitatea pentru apă şi gaze şi de asemenea să distrugă stratul tasat de teren de la baza arăturii. Trebuie arătat în această direcţie că în 1972 G r a b e r t şi S t e i n b r e n n e r au afirmat că arătura cu subsolaj favorizează în mod deosebit activitatea biologică a solului.

R i d k y (1961) a cercetat modificările microbiologice din podzoluri în legătură cu adîncirea stratului arabil. Arătura adîncă cu afînarea subsolului au influenţat evident microflora. A crescut numărul total de microorganisme, în timp ce numărul de spori şi de bacterii anaerobe s-a redus.

P e t t e r s o n şi T e t e r j a (1962) au urmărit influenţa lucrărilor solului asupra compoziţiei microflorei şi a activităţii zaharei şi amilazei.

Tabelul 1 ?

Influenţa adîncimii arăturii asupra însuşirilor biologice ale solului cernoziom moderat levigat supus irigării (Ş t e f a n i c şi colab., 1972)

Adîncimea arăturii (cm)	Carbon total (Ct %)	Nitrificare (fără NH_4SO_4) NO_3 mg/100 g sol	Activitatea dehidrogenazică (formazon mg/100 g sol)	Activitatea ureazică (NH_4mg/100 g sol)	Activitatea fosfatazică (fenol mg/100 g sol)	Activitatea catalazică (H_2O_2 mg/100 g sol)
15	1,70	42	9,20	53	324	477
25	1,67	37	5,15	47	343	402
35	1,56	30	6,25	49	311	394

Autorii arată că pe solurile podzolice cenuşii deschise, în cazul arăturii adînci se întîlneşte un număr mai mare de microorganisme şi o activitate mai ridicată a acestor enzime.

Numeroase lucrări au fost consacrate procesului de nitrificare în solurile arate la diferite adîncimi. U s e n k o (1960) arată că prin adîncirea stratului arabil al unui cernoziom tipic, la 40 cm are loc creşterea activităţii bacteriilor nitrificatoare. Cantitatea de nitraţi din sol creşte în astfel de condiţii din luna mai pînă în august, de la 2,25 la 20,8 ppm, cu precădere în straturile profunde ale solului.

T a m m şi K r z y s c h (1964) arată că în cazul arăturii la suprafaţă, capacitatea de nitrificare a stratului subarabil este practic nulă comparativ cu lucrarea în adîncime, în care situaţia se prezintă în limite apropiate de valorile stratului superficial (tab. 18). Este de remarcat faptul că activitatea bacteriilor nitrificatoare în stratul de 28—40 cm este foarte slabă în ambele variante de lucrări, fapt ce demonstrează că spre deosebire de numărul total de microorganisme care este influenţat chiar şi în stratul subarabil, bacteriile nitrificatoare nu-şi pot desfăşura activitatea decît în solul afectat direct de lucrare. Pentru acestea, elementul principal în dezvoltare îl constituie aeraţia solului, strict dependentă de lucrare.

Rezultate similare au fost obţinute şi de E l i a d e (1966) pe sol cernoziomic moderat levigat în primii ani de executare a arăturii adînci. Faţă de solul lucrat superficial, variantele lucrate la 25 şi 35 cm se caracterizează printr-o nitrificare mai intensă atît în stratul de suprafaţă (0—20 cm), cît şi în profunzime. Se remarcă totodată faptul că aplicarea îngrăşămintelor minerale sau organo-minerale stimulează puternic activitatea acestor microorganisme. În solul arat superficial, în variantele îngrăşate, capacitatea de nitrificare exprimă de regulă un nivel mai scăzut, comparativ cu solul neîngrăşat. În cazul arăturii adînci, îngrăşămintele au o influenţă netă asupra acumulării nitraţilor, înregistrîndu-se, faţă de solul neîngrăşat, plusuri de 23,9; 26,5; 54,4 şi 58,9%. După opt ani de efectuare a arăturilor superficiale şi adînci, pe acelaşi teren, Ş t e f a n i c şi colab. (1972) au găsit o nitrificare mai slabă în variantele arate adînc decît în cea arată la 15 cm.

Tabelul 18

Conţinutul solului în nitraţi (mg la g sol) înainte (I) şi după (II) incubare (după T a m m şi K r z y s c h, 1964)

Stratul de sol (cm)	Arătură adîncă			Arătura superficială			Diferenţa
	I	II	II–I	I	II	II–I	
K_1 0—15	0,17	0,52	0,35	0,27	0,72	0,45	0,10
K_2 15—28	0,12	0,41	0,29	0,13	0,19	0,06	0,23
U 28—40	0,09	0,12	0,03	0,08	0,10	0,02	0,01
Media	0,15	0,47	0,32	0,20	0,46	0,26	0,06

Scanned with OKEN Scanner

În ceea ce priveşte capacitatea de amonificare a solului, experienţele efectuate de Eliade au arătat o dependenţă strînsă între adîncimea de arătură şi intensitatea amonificării de regulă în stratul profund, în care caz valorile sînt superioare celor înregistrate în solul arat la suprafaţă.

Capacitatea de fixare a azotului s-a dovedit, în cazul solurilor cernoziomice, mai intensă în solul arat la 35 cm. Faţă de arătura la 15 cm, în stratul profund (20—40 cm) al variantei arată la 35 cm, s-au înregistrat surplusuri de 5—9 kg/ha azot fixat. Este dificil de a stabili dacă azotul fixat în astfel de condiţii provine din activitatea bacteriilor aerobe sau a celor anaerobe, dar existenţa unor condiţii de aeraţie superioare în solul arat adînc, îndreptăţeşte concluzia că în astfel de condiţii predomină procesele aerobe de fixare. Se remarcă de asemenea o dependenţă strînsă între adîncimea arăturii şi aplicarea îngrăşămintelor organice. Gunoiul de grajd, bogat în material energetic, s-a dovedit a avea o influenţă mai mare asupra acestor microorganisme, atunci cînd este încorporat în sol prin arătura adîncă.

2.2.2. Influenţa adîncimii arăturii asupra principalelor grupe de microorganisme

a. **Bacteriile sporogene.** Pe solurile cernoziomice din sudul ţării Eliade (1966) a constatat că după efectuarea lucrărilor de toamnă, conţinutul solului în spori bacterieni este foarte scăzut. Valorile înregistrate nu depăşesc 1,72 milioane la un gram de sol în stratul superior (0—20 cm) şi 1,19 milioane, în profunzime (20—40 cm). Comparativ cu valorile ce se obţin în cursul perioadei de vegetaţie a plantei de cultură, valorile de mai sus sînt de 2—4 ori mai scăzute. Condiţiile biotice favorabile, create în urma lucrării solului, reprezentate printr-un regim de aeraţie şi umiditate superior, determină trecerea unui mare număr de spori în forme vegetative. În cursul anului ce urmează lucrările solului, conţinutul în spori este variabil. În primăvară numărul lor se menţine scăzut (1,34 — 2,58 milioane/g de sol). În timpul verii se constată tot mai evident tendinţa de acumulare a sporilor în sol, atingînd maximum în lunile iulie-august. Este deosebit de interesant aspectul privind dependenţa frecvenţei sporilor de nivelul umidităţii din sol (fig. 25). Faptul că toate valorile maxime se înregistrează imediat înaintea irigării solului, generează concluzia că în dinamica lor, un rol esenţial îl joacă regimul de umiditate. Este de presupus de altfel că factorii externi, apreciaţi ca fiind stimulatori pentru majoritatea formelor vegetative ale microorganismelor, să fie factori limitativi ai numărului de spori. Din acest punct de vedere, existenţa unei dinamici sezoniere de sens opus cu a numărului total de microorganisme este firească. Se desprinde şi concluzia că dinamica diferită a numărului de spori, faţă de numărul total de microorganisme, nu trebuie nicidecum să ducă la concluzia falsă a neconcordanţei indicilor biologici în aprecierea stării de fertilitate a unui sol. Frecvenţa scăzută a numărului de spori, interpretaţi ca forme inactive ale microorganismelor

Scanned with OKEN Scanner

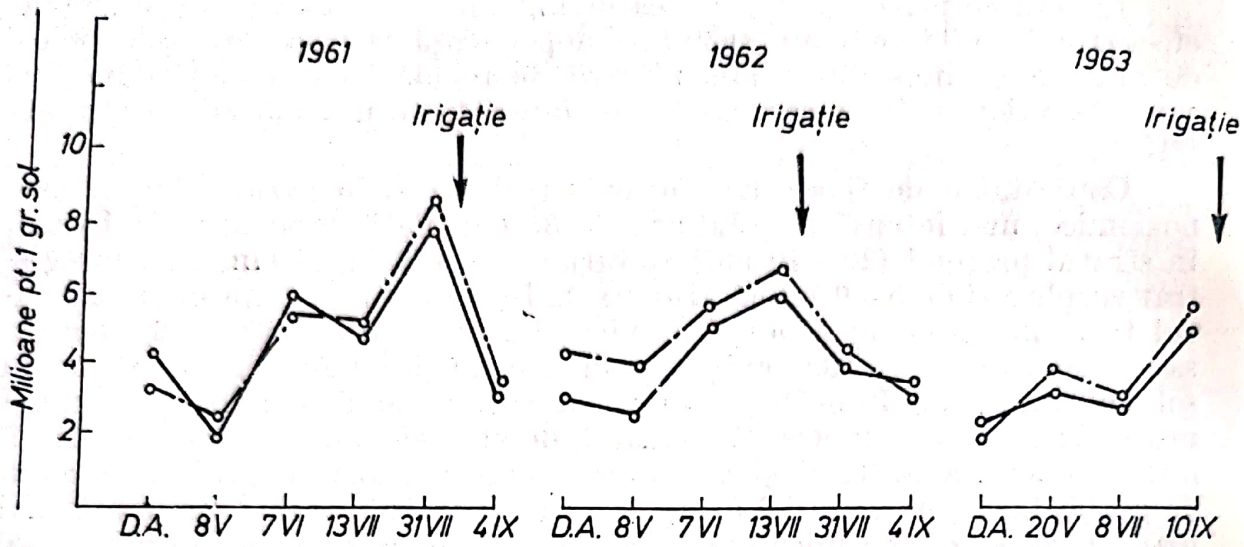


Fig. 25. Dinamica numărului total de spori bacterieni în funcţie de irigarea solului (după E l i a d e, 1966)

din sol, în primăvară şi toamnă după lucrarea solului, demonstrează tocmai intensitatea activităţii microbiene în această perioadă.

În ceea ce priveşte influenţa adîncimii de arătură, K i s e l e v a şi P a l e ţ k a i a (1960) arată că în cazul arăturii superficiale numărul bacteriilor sporulate este mai ridicat. La concluzii asemănătoare ajunge şi E l i a d e (1966), care arată că prin arătura adîncă a fost stimulată germinarea sporilor în măsură mai mică la suprafaţă şi mai puternic în stratul profund.

Compoziţia taxonomică a bacteriilor sporogene suferă de asemenea modificări, uneori pronunţate sub acţiunea adîncimii de lucrare a solului şi a diferitelor tratamente. De multe ori condiţiile fizice schimbate ale solului în urma adîncirii stratului arabil, acţionează indirect asupra unor specii de bacterii sporogene, prin intermediul altor procese. După G r o m î k o (1955) un astfel de proces este nitrificarea. Intensificarea nitrificării în stratul profund al solului arat adînc, are drept urmare o creştere substanţială a numărului de bacterii sporogene aparţinînd speciei *Bacillus megaterium*. Această specie se dezvoltă rapid numai atunci cînd în sol are loc un proces intens de nitrificare, deoarece, spre deosebire de celelalte microorganisme sporogene, *B. megaterium* foloseşte nu numai formele organice, ci şi cele minerale de azot.

S-a arătat de asemenea (E l i a d e, 1966) că cel puţin pentru solurile cernoziomice, efectul arăturii adînci se caracterizează, pentru fiecare perioadă, printr-o valoare specifică a raportului dintre numărul celulelor de *Bacillus megaterium* şi cele ale grupului *Bacillus subtilis-mesentericus*. După cum rezultă din figura 26, acest raport este foarte ridicat după arătura de toamnă. În lunile de primăvară se remarcă un conţinut practic egal al acestor microorganisme în sol, pentru ca în vară să crească foarte mult reprezentanţii grupului *B. subtilis-mesentericus*.

Adîncimea arăturii influenţează frecvenţa speciilor de bacterii sporogene şi raporturile dintre ele, în mod diferit, în funcţie de stratul de sol

1963

BACILLUS	ARAT la :	Stratul de sol(cm)	TOAMNA după arătură %	PRIMAVARA %	VARA %
MEGATERIUM %	15 cm	0-20	42	43	9
		20-40	36	25	8
	25 cm	0-20	43	30	20
		20-40	38	28	10
	35+10 cm	0 20	47	28	15
		20-40	59	52	6
SUBTILIS MESENTERICUS %	15 cm	0-20	25	43	78
		20-40	21	60	85
	25 cm	0-20	33	30	60
		20-40	33	61	49
	35+10 cm	0-20	32	49	52
		20-40	17	30	75

Fig. 26. Raportul dintre frecvenţa bacteriilor *Bacillus megaterium şi Bacillus subtilis mesentericus* (după E l i a d e, 1966)

analizat. În stratul superficial (0—20 cm), aceste raporturi sînt puţin schimbate de la o adîncime de arătură la alta. Se întîlneşte un conţinut practic egal al bacteriilor sporogene din specia *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus polymyxa*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus coagulans* şi *Bacillus cereus*, pe cele trei variante de arătură. În stratul profund al solului (20—40 cm) situaţia este schimbată. Se constată o creştere procentuală a bacteriilor aparţinînd speciei *Bacillus megaterium* în solul arat la 35 cm. Această creştere are loc de regulă în detrimentul celorlalte specii sporogene şi în special a bacteriilor din grupul *subtilis mesentericus* şi este evidentă în toamnă după lucrarea solului şi în primăvară.

b. **Microorganismele celulolitice.** Microorganismele celulolitice, principali agenţi ai descompunerii celulozei în sol, fiind germeni ce-şi desfăşoară activitatea în condiţii de aeraţie avansată, sînt extrem de sensibile la agenţii ce condiţionează acest factor în sol. Cercetările efectuate pe un cernoziom mediu levigat (E l i a d e, 1966) arată într-adevăr dezvoltarea diferenţiată a acestora în raport cu adîncimea de arătură. În orizontul superior al solului (0—20 cm) nivelul de aeraţie, asigurat în mod satisfăcător, atît de arătura la suprafaţă, cît şi de cea de adîncime, determină un conţinut practic egal al acestor germeni în sol. În stratul profund, numărul acestor microorganisme este mai mare în solul arat la adîncime (fig. 27), depăşind cu 50—100% valorile înregistrate în stratul corespunzător al solului arat la 15 cm. Diferenţele maxime între cele două variante de adîncime de arătură se obţin în vară şi la sfîrşitul perioadei de vegetaţie. În aceste perioade, după cum s-a arătat, nu mai există o diferenţiere netă a aeraţiei solului în funcţie de adîncinea de lucrare, dar se păstrează diferenţe ale regimului de umiditate şi aprovizionare a solului cu azot asimilabil, elemente ce pot fi considerate determinante şi pentru acest grup de microorganisme.

Scanned with OKEN Scanner

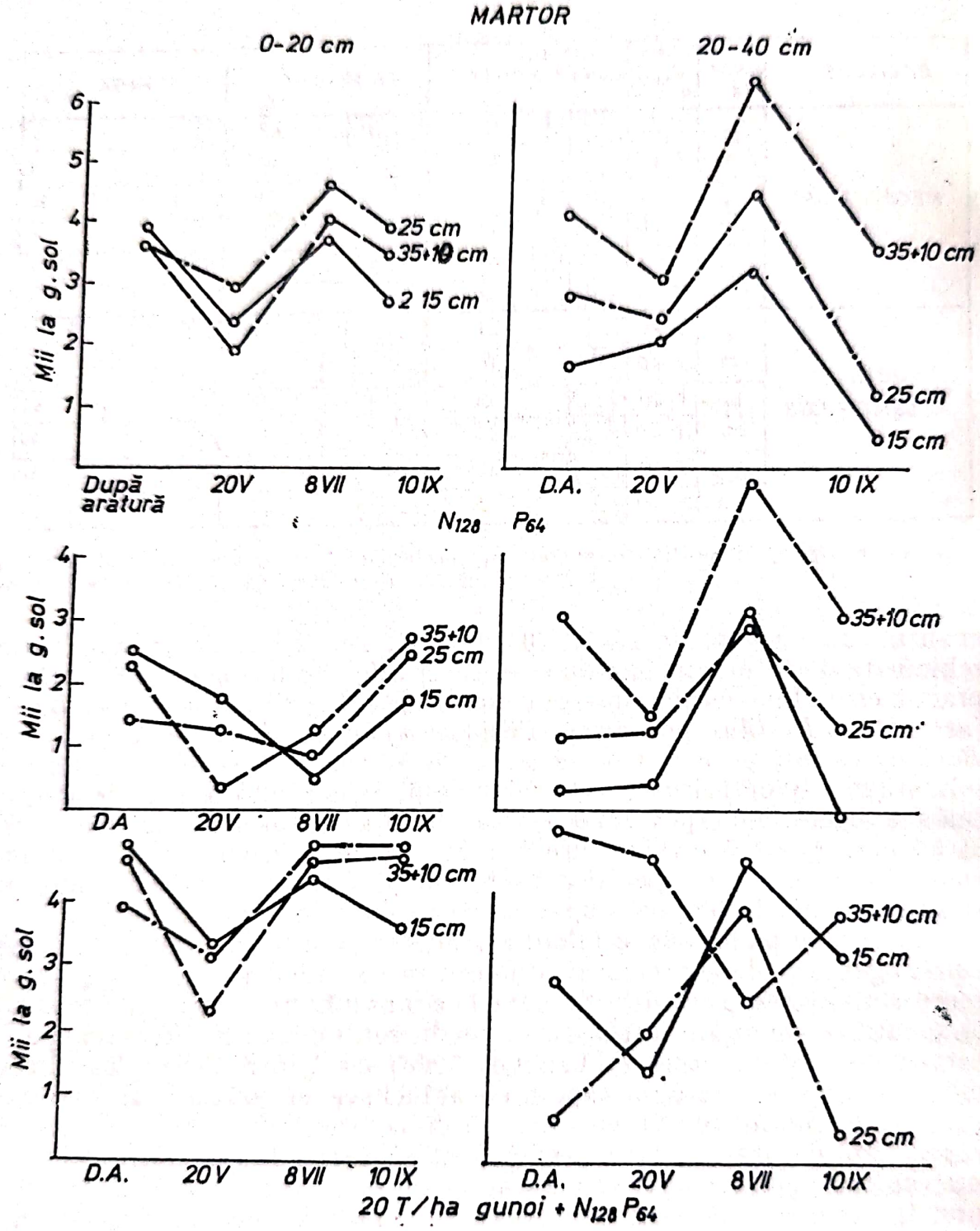


Fig. 27 Dinamica numărului total de microorganisme celulolitice (după Eliade, 1966)

Adîncimea de arătură influenţează de asemenea şi raporturile numerice dintre bacteriile şi ciupercile celulolitice. Mişustin (1963) consideră că schimbarea raportului dintre aceste două grupe de microorganisme, în a căror stabilire intervin numeroşi factori pedologici şi climatici, merge paralel cu creşterea sau descreşterea fertilităţii solului. Astfel, pentru

Tabelul 19

Influenţa adîncimii de arătură asupra microorganismelor celulolitice (după E l i a d e, 1966)

Adîncimea de arătură (cm)	Toamna după arătură	Mai	Iulie	Septembrie
		Număr total microorganisme celulolitice (mii/g sol)		
15	7 810	6 060	8 780	6 310
25	6 970	6 410	9 980	7 410
35	11 600	6 850	11 340	9 600
		Bacterii celulolitice (%)		
15	58	44	57	60
25	54	38	—	40
35	80	55	63	67
		Ciuperci celulolitice (%)		
15	42	56	43	40
25	46	62	—	60
35	20	45	37	33

solurile puţin fertile, sînt caracteristice de regulă ciupercile, în special din genul *Dematium*, *Chaetomium* şi *Fusarium*. Odată cu creşterea gradului de fertilitate se remarcă predominarea bacteriilor. E l i a d e (1966) a arătat că şi în cadrul aceluiaşi tip de sol, în speţă cernoziom moderat levigat, are loc modificarea acestui raport în funcţie de adîncimea de arătură. În solul arat la 35 cm, valoarea acestui raport este supraunitară. (tab. 19). Se remarcă totodată că în timpul perioadei de frecvenţă maximă a numărului total de microorganisme celulolitice, predomină bacteriile, iar în perioadele corespunzătoare unei frecvenţe minime, sînt mai numeroase ciupercile. Dinamica microorganismelor celulolitice şi în special frecvenţa redusă a bacteriilor în perioada arătată mai sus, poate fi pusă în legătură cu un regim defavorabil al azotului nitric în sol, faţă de care ciupercile sînt mai puţin sensibile.

Analiza diferitelor specii de bacterii celulolitice scoate în evidenţă comportamentul diferit faţă de adîncimea de arătură. În această direcţie K l e v e n s k a i a (1960) arată că intensificarea procesului de celuloliză în solul arat mai adînc se datoreşte cu precădere proliferării bacteriilor din genul *Cytophaga* şi *Cellvibrio*. C a l a n c e a şi A n c a (1957) consideră că specia *Cytophaga hutchinsonii* poate fi apreciată ca un microorganism test în determinarea modului în care lucrarea solului poate influenţa descompunerea diferitelor resturi vegetale bogate în celuloză. De altfel, s-a constatat strînsa dependenţă dintre frecvenţa acestei specii şi cantitatea materialului descompus. Sub acest aspect, proporţia de bacterii

Scanned with OKEN Scanner

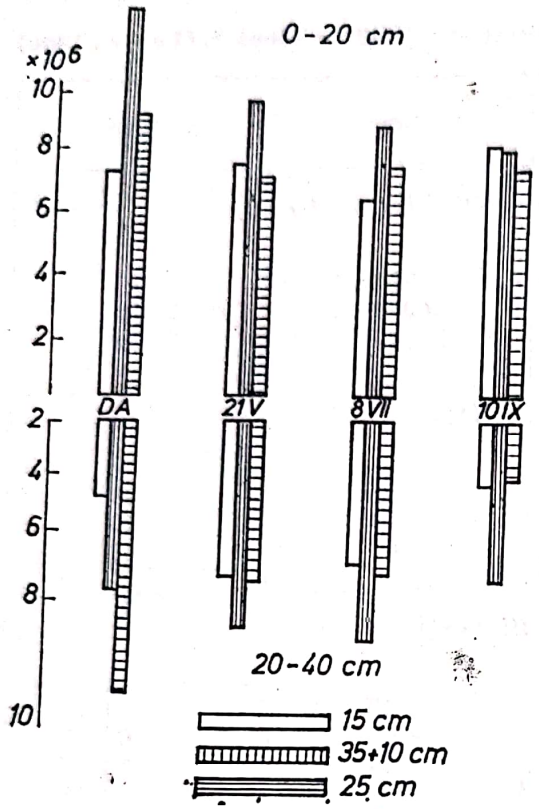


Fig. 28. Influenţa adîncimii de arătură asupra actinomicetelor (după E l i a d e, 1966)

celulolitice, mai mare în cazul arăturii adînci şi anume în stratul profund, unde este încorporată marea masă a materialului vegetal, dovedeşte dependenţa dintre aceşti doi factori.

c. **Actinomicetele.** Experienţele efectuate pe solurile cernoziomice de la staţiunea Fundulea de către E l i a d e (1964) au demonstrat şi în cazul actinomicetelor, dependenţa lor faţă de adîncimea la care se lucrează solul. Din figura 28 rezultă că diferenţele între cele două variante arate la adîncime diferită sînt mici în primul an şi cresc apoi progresiv spre sfîrşitul ciclului de experimentare, în favoarea solului arat la adîncimea de 35 cm. A fost constatată totodată o relaţie strînsă între efectul adîncimii de arătură şi cel al îngrăşămintelor. Aplicarea acestora concomitent, măreşte numărul actinomicetelor din sol. Influenţa asociată este mai redusă în cazul solului arat superficial şi evident superioară în varianta arată adînc. Raportate la solul martor (neîngrăşat), valorile procentuale obţinute pe cele două variante arate la adîncimi diferite, prezintă diferenţe foarte mari (fig. 29). Astfel, în solul arat la 35 cm, varianta fertilizată cu gunoi de grajd şi îngrăşăminte minerale conţine, imediat după tratament, cu 30% mai multe actinomicete decît solul lucrat superficial.

Structura taxonomică a actinomicetelor se schimbă în mică măsură în funcţie de adîncimea de arătură.

d. **Ciupercile microscopice.** A fost de asemenea descrisă frecvenţa mai ridicată a acestor microorganisme în solul arat adînc.

Din punct de vedere taxonomic se remarcă în solul arat superficial o uşoară creştere procentuală a ciupercilor din genul *Penicillium* şi *Fusarium*, iar în solul arat adînc, creşterea numărului de ciuperci din genul *Trichoderma*.

2.3. SISTEMUL MINIM DE LUCRĂRI ŞI MICROORGANISMELE

Cu toate că mecanizarea lucrărilor solului reprezintă cel mai mare progres din agricultura ultimelor decenii, nu trebuie trecut cu vederea că de acest element sînt legate şi unele dezavantaje. Unul dintre cele mai importante, cu toate că nu este de neînlăturat, îl constituie gradul avan-

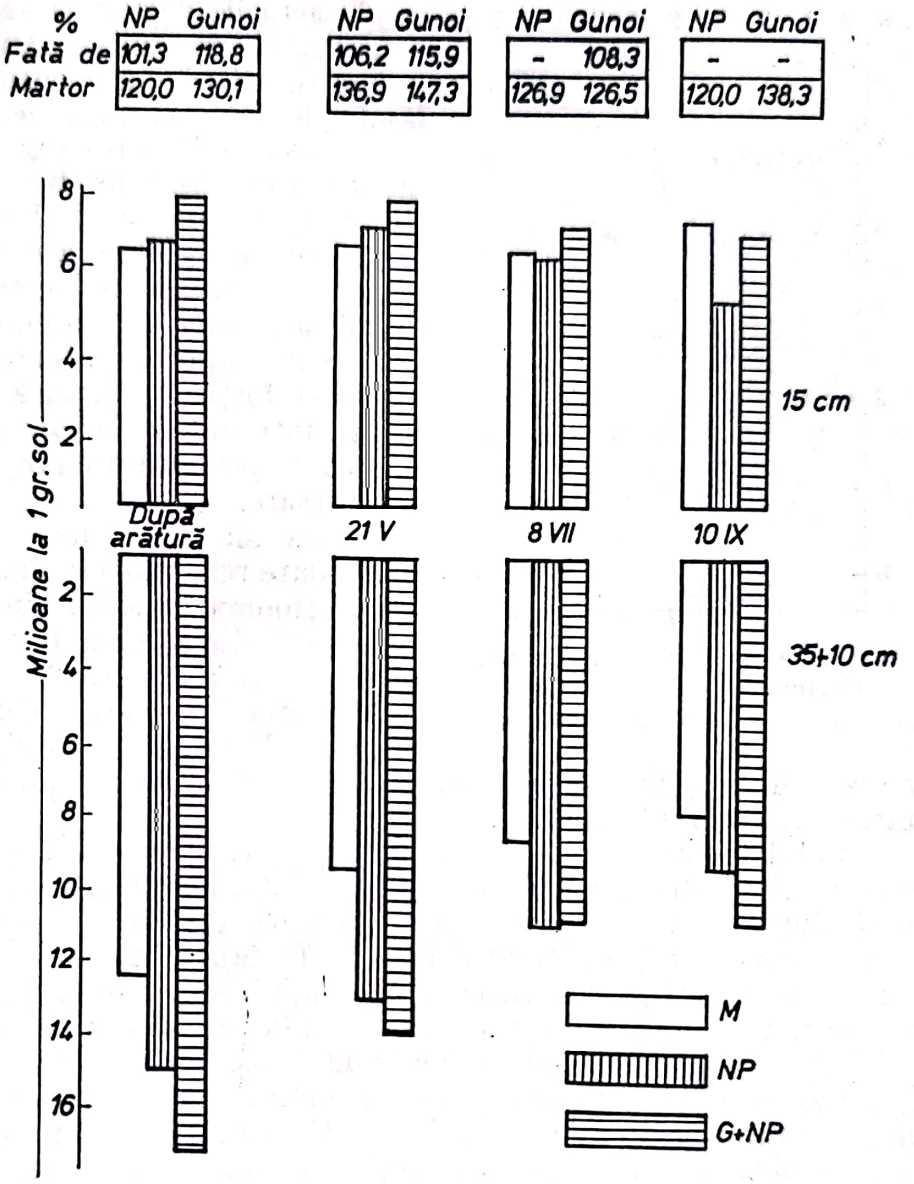


Fig. 29. Influența agrofondului asupra actinomicetelor (după E l i a d e, 1966)

sat de tasare a solului de către uneltele grele de lucru. În legătură cu acest aspect, preocupările au fost îndreptate spre posibilitățile de a reda solului arabil o capacitate portantă mai mare, realizabilă prin refacerea structurii. Încă din 1951, S e k e r a a arătat că un sol cu structură este mai puțin sensibil la presiunea roții, față de unul fără structură. După cum se vede din figura 30, el a înregistrat adîncimea zonei de tasare pe urma roții de tractor. Pe partea din cîmpul experimental unde solul avea o structură bună, s-a putut circula la două zile după ploaie fără a avea loc efecte nefavorabile, în timp ce pe solul fără structură, tractorul a lăsat urme dăunătoare chiar după șase zile. Autorul a demonstrat că forța portantă a solului cu structură este mai mare, consecință a bunei circulații a apei și uscării rapide la suprafață. Trebuie subliniat faptul că, chiar dacă solul bine structurat posedă o forță portantă mare, totuși nu trebuie omis că

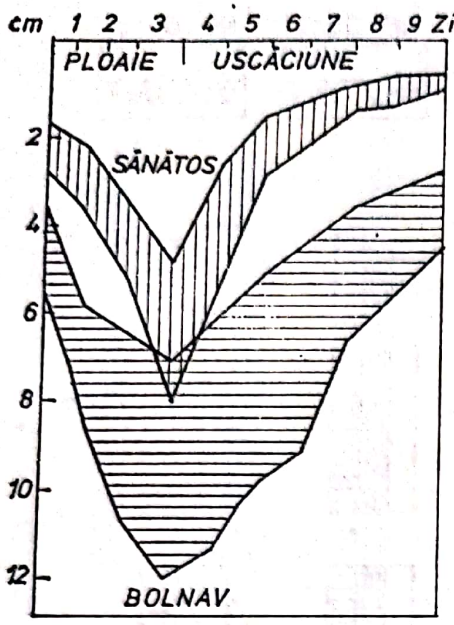


Fig. 30. Zona de refugiu a urmei de tractor (după S e k e r a, 1951)

după lucrările de întreţinere care se fac în mare parte mecanizat, un sol proaspăt arat este întotdeauna sensibil la urmele lăsate de către maşini. De aceea în ultima vreme se acordă din ce în ce mai multă atenţie sistemului de lucrări minime.

Sistemul minim de lucrări reprezintă un procedeu agrotehnic nou, al cărui scop principal constă în reducerea lucrărilor ce se aplică în mod curent culturilor agricole. Dacă sub raportul economiei de timp, utilaj şi forţă de muncă, sistemul prezintă într-adevăr avantaje, concluziile în ceea ce priveşte producţia nu sînt încă edificatoare.

Fiind un sistem de lucru recent, nu există date referitoare la influenţa lui asupra microorganismelor. Singurele cercetări în această direcţie au fost întreprinse în cursul anilor 1965—1966 şi 1967 la Institutul de Cercetări pentru Cereale şi Plante Tehnice—Fundulea. Datele obţinute aici au scos în evidenţă unele particularităţi atît în frecvenţa, cît şi în activitatea microorganismelor.

Solul lucrat după sistemul minim se caracterizează printr-o serie de însuşiri fizice diferite faţă de cele ale solului lucrat în toamnă sau primăvară după tehnica clasică. Aceste însuşiri se referă în primul rînd la gradul de tasare şi la conţinutul în apă. În tabelul 20 în care este expusă dinamica greutăţii volumetrice a solului, se remarcă faptul că aceasta prezintă valori mai scăzute în varianta arată toamna, comparativ cu celelalte două variante, dar numai pînă în momentul arăturii de primăvară. Începînd din acest moment, s-au înregistrat valori ale greutăţii volumetrice mai mici în celelalte două variante. Cu excepţia unei perioade scurte, determinată de decalajul în timp al lucrării, solul arat după sistemul minim de lucrări nu s-a deosebit de cel lucrat în primăvară după procedeul clasic. Această scurtă perioadă este caracteristică şi pentru procesul de nitrificare. Astfel, la data de 25 martie, atît în varianta arată toamna, cît şi în cea arată primăvara, s-au obţinut valori mai ridicate de nitraţi

Tabelul 20

Variaţia anuală a valorilor de greutate volumetrică (g/cm³) în funcţie de sistemul de arătură (după E l i a d e şi colab., 1968)

Sistemul de arătură	Greutatea volumetrică la:				
	25 martie	27 aprilie	2 iunie	3 iulie	1 septembrie
Sistem minim	1,31	1,26	1,30	1,23	1,23
Arătură de toamnă	1,24	1,28	1,35	1,29	1,29
Arătură de primăvară	1,28	1,23	1,30	1,27	1,25

(66,7 şi respectiv 65,4 ppm) comparativ cu lucrarea minimă, unde activitatea bacteriilor nitrificatoare a fost de trei ori mai scăzută. Este de remarcat că în restul perioadei de vegetaţie, valorile capacităţii de nitrificare în cele trei variante au fost practic egale, ceea ce concordă şi confirmă totodată relaţia strînsă dintre greutatea volumetrică şi acest proces.

Numărul total de microorganisme, precum şi frecvenţa principalelor grupe de bacterii, ciuperci şi actinomicete sînt în foarte slabă măsură influenţate de sistemul minim de lucrări.

2.4. RELAŢIA ÎNTRE PRAŞILĂ ŞI MICROORGANISME

În literatura de specialitate este de multă vreme încetăţenită părerea că orice lucrare care duce la afînarea solului stimulează microflora printr-o mai bună aeraţie, prin omogenizarea elementelor nutritive etc.

Această constatare, justificată de un număr mare de date obţinute îndeosebi în urma experienţelor cu arături, a fost extrapolată şi pentru cazul praşilelor, fără executarea unor cercetări speciale în această direcţie. Astfel s-a ajuns ca tratatele de agrotehnică să fie unanime în a aprecia că praşila stimulează activitatea microorganismelor, în special a bacteriilor nitrificatoare.

Problema părea în trecutul apropiat numai teoretică, deoarece prăşirea solului era oricum necesară pentru înlăturarea buruienilor, iar siguranţa celorlalte efecte atribuite nu interesa practica agricolă.

Introducerea erbicidelor însă, deschizînd perspectiva renunţării la praşilă ca mijloc de combatere a buruienilor, a redeschis discuţia asupra celorlalte funcţii ale acestei lucrări de întreţinere. Győrffi (1964) este de părere că oricare este modul în care se înlătură buruienile, efectul asupra recoltei este acelaşi. Alţi autori însă, ca de exemplu Makodzeba şi Fisiunov (1963) emit o părere contrarie. Trebuie observat că în general autorii care susţin inutilitatea praşilelor pentru îmbunătăţirea proprietăţilor fizice şi microbiologice ale solului, au lucrat pe soluri uşoare, iar autorii care nu aderă la acest punct de vedere au lucrat pe soluri grele.

În legătură cu această dispută, date interesante se pot găsi într-o lucrare a lui Rovira şi Gracean (1957). Lucrînd pe modele, cei doi cercetători observă că afînarea solului provoacă o puternică stimulare a activităţii microbiene. Reafînarea produce şi ea un efect pozitiv, dar mai slab. Cu cît următoarele afînări se aplică unui sol mai puţin tasat şi efectul este mereu mai slab. În aceste condiţii s-ar desprinde concluzia că în cazul în care afînarea solului prin prăşire se aplică unui sol tasat, efectul este foarte puternic. Dimpotrivă, reafînarea unui sol cu bună aeraţie este fără efect.

Pînă în prezent nu există suficiente date cu privire la starea de aeraţie sau umiditate a solurilor prăşite şi neprăşite, care să permită concluzii cu privire la rolul praşilei pentru viaţa microorganismelor.

Scanned with OKEN Scanner

Într-o experienţă efectuată în condiţii de cîmp, Ghinea (1966) arată că efectul prăşirii solului asupra numărului total de microorganisme a fost redus. Din punct de vedere al compoziţiei taxonomice s-a constatat însă că prăşirea solului contribuie la menţinerea unui procent mai mare de bacterii din specia *Bacillus megaterium* (42% faţă de 28%) şi de *Coccaceae* (15% faţă de 8%). În varianta lucrată, frecvenţa bacililor din grupul *Bacillus subtilis-mesentericus* a fost mai redusă (18% faţă de 33%). În capitolul de faţă s-a discutat despre valoarea bacteriilor din aceste grupe ca indicator ai stării de afînare a solului. În varianta nelucrată s-a înregistrat, de asemenea, în plus faţă de varianta prăşită, un procent ridicat de germeni din specia *Bacillus cereus* (25%), fapt ce se poate corela cu gradul sporit de îmburuienare al parcelei nelucrate, precum şi numărul redus de micobacterii, mai tolerante la uscarea solului decît sporogenele pe care le-au înlocuit.

În solul prăşit, raportul dintre numărul de spori bacterieni aparţinînd speciei *Bacillus megaterium* şi cei aparţinînd grupului *Bacillus subtilis-mesentericus*, se menţine oarecum constant, în jur de 4, în timp ce la varianta nelucrată, scade continuu în cursul perioadei de vegetaţie de la 4 la 0,5.

Actinomicetele sînt, în a doua parte a perioadei de vegetaţie, mai numeroase în solul neprăşit. În ceea ce priveşte repartiţia taxonomică, frecvenţa actinomicetelor din seria *Streptomyces albus* şi *Streptomyces griseus* în solul lucrat creşte în a doua parte a perioadei de vegetaţie.

În solul prăşit, numărul de ciuperci creşte de asemenea.

Microorganismele celulolitice aerobe sînt stimulate de prăşirea solului.

În solul neprăşit s-a înregistrat o cantitate mai mică de azot total decît în solul lucrat, ceea ce poate fi corelat cu o capacitate de fixare mai slabă.

În solul nelucrat s-au observat însă valori mai ridicate pentru indicii legaţi de mineralizarea substanţelor azotate. S-a pus astfel în evidenţă o amonificare mai intensă şi o activitate mai ridicată a enzimelor proteolitice. Trebuie observat că atît amonificarea, cît şi proteoliza pot fi realizate cu deosebită energie în condiţii de anaerobioză. Îndeosebi procesele proteolitice au loc în sol cu intensitate sporită în condiţii de aeraţie redusă.

În ceea ce priveşte activitatea zaharazei, ea a fost mai ridicată în parcelele prăşite. Rezultate similare a obţinut şi Galstian (1964), explicîndu-le prin activitatea incomparabil mai mare a rădăcinilor plantelor de cultură comparativ cu a buruienilor eliminate prin prăşit.

Dimpotrivă, Kiss (1964) a găsit o activitate zaharazică mai intensă în parcelele îmburuienate. Probabil că nivelul activităţii zaharazice a solului este determinat simultan de efectul gradului de îmburuienare, de nivelul activităţii zaharazice a speciei cultivate, precum şi de activitatea microflorei din parcelele lucrate şi nelucrate.

În încheierea celor spuse se poate trage uşor concluzia că prăşirea solului contribuie în mare măsură la menţinerea la nivel ridicat a activităţii microbiene a acestuia.

Scanned with OKEN Scanner

3. LUCRAREA DE DESFUNDARE A SOLULUI ŞI MICROORGANISMELE

Lucrarea adîncă de desfundare a solului se aplică în mod special în solurile care prezintă defecte fizice şi în consecinţă şi defecte chimice. Aşa este cazul solurilor care au un strat argilos, impermeabil, imediat sub stratul cu humus, care împiedică drenarea excesului de apă provenit din precipitaţii, sau a solurilor care prezintă diferenţe mari de textură între orizontul arabil şi cel subarabil şi care prin răsturnarea şi amestecarea straturilor conduce la îmbunătăţirea stării fizice a solului arabil, fie că acesta a fost prea nisipos, fie că a fost prea argilos.

Toţi autorii recomandă ca după desecarea solurilor cu exces de umiditate, de toate tipurile, să se efectueze o arătură adîncă de desfundare, a orizontului humifer sau turbos. Această lucrare are drept scop reglementarea regimului aero-hidric al solului, urmată de declanşarea proceselor de mineralizare a materiei organice şi de eliberarea substanţelor nutritive în forme accesibile. Efectuarea arăturii trebuie precedată în mod obligatoriu de cercetarea amănunţită a solului, pentru a stabili adîncimea orizontului humifer, adîncimea la care apare orizontul de glei şi caracterul acestuia (glei de oxidare sau glei de reducere). Obrejanu şi Măianu (1966) atrag atenţia că fără cunoaşterea acestor indici, arătura de desfundare poate să aibă un efect negativ asupra creşterii plantelor, cel puţin în primul an de la luarea în cultură a acestor soluri.

Este bine cunoscută starea de fertilitate nesatisfăcătoare a solurilor podzolice pseudogleizate (exogleizate). În depresiunile submontane Oaş şi Baia Mare din ţara noastră, această stare a fost atribuită atît aciditaţii ridicate, aprovizionării deficitare cu elemente de nutriţie, cît şi slabei permeabilităţi a orizontului iluvial B (Vintilă şi colab., 1967). Una din metodele de perspectivă pentru ridicarea fertilităţii acestor soluri poate fi aceea a mobilizării profunde a solului, prin care să se introducă în stratul afînat al suborizontului podzolic A_2, A_2B şi o parte a orizontului B, în complex cu amendarea calcică şi fertilizarea. Experienţe întreprinse în diferite locuri în R. S. România au condus la rezultate diferite. Astfel, desfundarea efectuată la Oarja, în condiţiile Piemontului Getic, pe un sol brun podzolit cu drenaj intern practic absent, au dat rezultate promiţătoare într-un an secetos (Berindei şi colab., 1965). Cercetări similare efectuate pe un sol asemănător, la Albota-Argeş, au condus la rezultate negative, datorate în mare măsură creşterii excesului în apă, instalării unui regim de aer net defavorabil precum şi creşterii condiţiilor de aciditate în stratul aerat (Iancu şi colab., 1968).

Cu totul altele au fost rezultatele ce s-au obţinut în experienţele cu lucrări de desfundare, calcarizare şi fertilizare, de la Staţiunea experimentală Livada, judeţul Satu-Mare, pe un podzol pseudogleizat, cu carbonatare freatică reziduală. Boeriu şi colab. (1969) arată că solul desfundat conţinea o cantitate mai mare de rădăcini, atît în total profil, cît şi pe zone de adîncime, în comparaţie cu solul arat normal. Solul arat normal conţinea în zona 0—20 cm 1,54% humus, iar solul desfundat, 1,23%. În zona de la 40—60 cm s-a găsit 0,73% humus în solul arat normal şi

0,94% în cel desfundat. Greutatea volumetrică a solului a fost mai mică în adîncime la solul desfundat decît în cel arat normal, ceea ce explică existenţa unui volum de aer cu 3—10% mai mare în zona 35—85 cm a solului desfundat, comparativ cu cel arat normal. Conţinutul în fosfor mobil la adîncimea 0—20 cm a fost de 3,7 mg/100 g sol în varianta arată normal şi 2,9 mg/100 g sol în varianta cu desfundare. În schimb, la adîncimea de 40—60 cm, situaţia se inversează găsindu-se o cantitate mai mare de fosfor mobil în solul desfundat (1,7 mg P_2O_5/100 g sol) comparativ cu solul arat normal (1,4 mg P_2O_5/100 g sol). Conţinutul de nitraţi a fost mai mare în solul desfundat, iar indicele pH la adîncimea 0—20 cm este 6,3 faţă de 5,9 cît s-a determinat la aceeaşi adîncime în solul arat normal. Sub această adîncime pH-ul nu diferă între variantele de arătură. Aciditatea hidrolitică este la suprafaţă mai scăzută în solul desfundat, 2,0 m.e., şi de 2,8 m.e. în solul arat normal. De la adîncimea de 40 cm situaţia se inversează : 5,5 m.e. în solul desfundat şi 5,0 m.e. în solul arat normal. Cantitatea de aluminiu mobil, mai mică la adîncimea 0—20 cm la solul desfundat, creşte vizibil în zona de la 40—60 cm, depăşind cu aproape 2 mg la 100 g sol pe cea din solul arat normal.

Producţia obţinută la porumb a fost în medie pe anii 1965—1967 de 46,8 q/ha în varianta cu arătură normală şi de 55,1 q/ha în varianta cu desfundare la 70 cm.

Rezultatele bune obţinute la ameliorarea însuşirilor fizice şi chimice ale solului podzolic de la Staţiunea experimentală Livada, Satu-Mare, precum şi ameliorarea însuşirilor agro-productive au fost explicate de Ştefanic şi colab. (1971) pe baza cercetării modificărilor biologice petrecute în solul desfundat, comparativ cu cel arat normal, în condiţiile administrării amendamentului calcaros şi a fertilizării organice şi minerale. În figura 31 se prezintă variaţia pe profil a cantităţii de microorganisme şi a activităţii dehidrogenazice în funcţie de lucrarea solului.

După cum se poate vedea, variaţia numerică a microorganismelor şi activitatea dehidrogenazică sînt asemănătoare, fiind în stratul de sol de la 20 la 70 cm mai mari în solul desfundat decît în cel arat normal şi mai mici în stratul de la 0—20 cm. Explicaţia constă în aceea că resturile vegetale şi materialele organice humificate aduse de la suprafaţă în straturile mai adînci ale solului prin lucrarea de desfundare şi amestecare, au determinat multiplicarea microflorei şi stimularea activităţii dehidrogenazice. Rezultă totodată că şi activitatea fosfatazică a solului a prezentat o variaţie asemănătoare.

Simplul transport de materie organică de la suprafaţă spre adîncime nu ar fi capabil să determine o creştere a numărului de microorganisme dacă nu s-ar fi realizat în acelaşi timp şi o îmbunătăţire a aeraţiei în profunzime. Odată cu resursele de nutriţie şi energetice, se pare că prezenţa oxigenului a fost mai importantă pentru înmulţirea şi activitatea microorganismelor, decît prezenţa în cantităţi sporite a ionilor de aluminiu şi a acidităţii hidrolitice. Dezvoltarea unei mase mai mari de rădăcini în solul desfundat determină o rizosferă mai bogată şi totodată un conţinut sporit de enzime.

În stratul de sol de la suprafaţă (0—20 cm), numărul cel mai mare de microorganisme s-a găsit în parcelele unde s-a arat normal. Aceeaşi

Scanned with OKEN Scanner

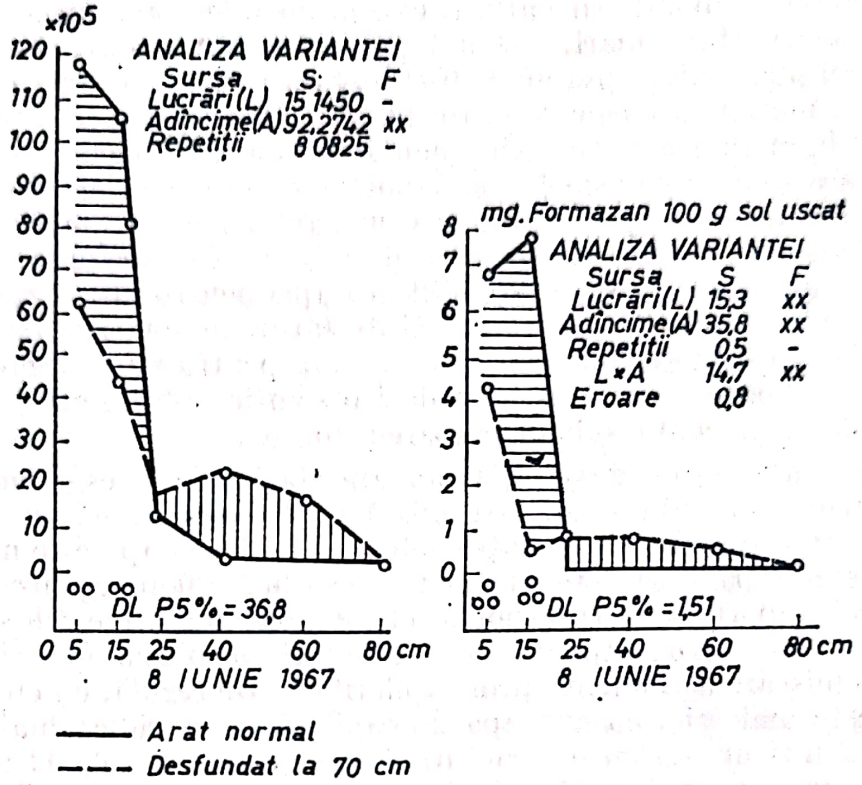


Fig. 31. Numărul de microorganisme şi activitatea dehidrogenazică pe profil, în funcţie de lucrarea solului (după Ş t e f a n i c şi colab., 1971)

situaţie s-a constatat şi în ceea ce priveşte activitatea enzimelor cercetate. După cum s-a arătat, prin lucrarea de desfundare a solului, rezervele de materie organică cuprinse în stratul de sol de la 0—20 cm au fost dispersate în întreaga masă de sol pînă la 70 cm. Deşi îngrăşămintele şi calcarul s-au administrat după efectuarea desfundării (în stratul de 0—20 cm) totuşi, însuşirile de bază pentru activitatea microflorei în această zonă nu au putut să se apropie de valoarea celor din solul arat normal şi fertilizat în acelaşi mod. Cantitatea mai mare a humusului şi a fosforului mobil în zona 0—20 cm a solului arat normal, comparativ cu solul desfundat, explică în cea mai mare parte indicii biologici mai ridicaţi.

Prin urmare, analizînd comparativ zonele de la 0—20 cm şi de la 20—70 cm din varianta cu desfundare şi cea cu arătură normală, constatăm că intensificarea activităţilor biologice în zonele de sub 20 cm din solul desfundat compensează, cu prisosinţă, scăderea acestor activităţi din zona de la 0—20 cm.

IV. APA DIN SOL ŞI MICROORGANISMELE

1. GENERALITĂŢI

Apa constituie principalul component al celulei microbiene, (75—90% apă). Apa participă la toate procesele de creştere şi multiplicare a microorganismelor. De aci rezultă importanţa acestui factor în

mediu ambiant. În natură, exceptînd microorganismele ce trăiesc în ape (lacuri, rîuri, mări, oceane) toate celelalte resimt, în măsură mai mică sau mai mare, lipsa apei. Microorganismelor din sol, apa le este necesară nu numai ca element cu rol plastic, ci și ca factor care condiționează în primul rînd nutriția. Apa include majoritatea elementelor nutritive necesare microorganismelor și favorizează circuitul acestor elemente în sol. Cantitatea compușilor din soluția solului este variabilă în raport cu caracteristicile tipului de sol și a climatului. Descreșterea umidității solului limitează nu numai accesibilitatea apei pentru microorganisme, dar determină și creșterea conținutului de săruri în soluția solului, care de multe ori în astfel de condiții devine nocivă pentru microorganisme.

Apa din sol constituie deci o soluție heterogenă și dinamică care se poate prezenta sub următoarele forme:

a) apa de gravitație sau gravitațională — este inclusă temporar în macroporii din sol. Ea se mișcă descendent în sol sub acțiunea forțelor gravitaționale. Capacitatea solului de a drena apa este numită permeabilitate. Apa gravitațională este accesibilă microorganismelor și joacă un rol important în transportul elementelor nutritive din sol;

b) apa de capilaritate — este inclusă în microporii solului și prezintă o mișcare ascendentă prin capilaritate. De regulă, cu cît diametrul porilor este mai mic, cu atît apa de capilaritate se ridică mai sus. S-a calculat că într-un sol cu o structură foarte fină (0,01—0,002 mm) apa se ridică în mod teoretic pînă la înălțimea de 45 m. Apa de capilaritate este accesibilă microorganismelor contribuind astfel prin conținutul ei în substanțe chimice la procesul de nutriție al acestora;

c) apa de higroscopicitate este strîns legată de particulele de sol. Ea reprezinta o peliculă cu o grosime variabilă între 10—20 Å, cu punct de îngheț foarte coborît. Apa de higroscopicitate caracterizează solul uscat la aer și este eliminabilă la etuvă la 105° C. Datorită atît forțelor cu care este legată de particulele de sol cît și proporției mici în care se găsește (1—5 %), apa de higroscopicitate nu interesează din punct de vedere biologic.

Conținutul total al apei din sol se determină prin uscare la 105°C și se raportează la solul complet uscat. Conținutul de apă astfel exprimat, este un indice indispensabil în anumite situații — cu precădere pentru evaluarea cantității absolute de apă dintr-o probă de sol. Această valoare este însă insuficientă atunci cînd se urmărește gradul ei de disponibilitate pentru plantele superioare sau pentru microorganisme.

Pentru aprecierea gradului de disponibilitate al apei din sol se folosesc în mod curent două constante: capacitatea de reținere și punctul de ofilire:

— capacitatea de reținere, este exprimată în procente din greutatea uscată a solului și reprezintă, cu mici abateri, cantitatea de apă capilară pe care solul o poate reține. Datorită ușurinței cu care poate fi obținută și măsurată, această constantă este frecvent folosită pentru aprecierea nivelului de umiditate în lucrările experimentale;

— punctul de ofilire, corespunde nivelului de umiditate la care plantele întîmpină greutăți în absorbția apei. Punctul de ofilire marchează limita dintre apa capilară și apa de higroscopicitate. Foarte variabil,

Scanned with OKEN Scanner

în funcţie de structura şi textura solului, punctul de ofilire se evaluează curent prin reacţia plantei de cultură.

Examinarea unui mare număr de soluri a arătat că apa exprimată ca procente din greutatea solului uscat prin capacitatea de reţinere, cît şi prin punctul de ofilire, este variabilă la diferite soluri. Aceste constante nu dau relaţii asupra accesibilităţii apei pentru diferite organisme. Pentru a folosi apa, un organism viu trebuie să cheltuiască o anumită cantitate de energie necesară scoaterii ei din sol. Această energie depinde de forţa cu care apa este reţinută, determinată la rîndul său de tipul şi mărimea particulelor de sol, de caracteristicile agregatelor (structura solului) şi de concentraţia ionilor din faza apoasă. Pentru măsurarea acestei energii, de S c h ö f i e l d (1935) a introdus scala de pF. Valorile pF exprimă logaritmic diferenţa între energia apei libere din sistemul sol şi a apei libere de la suprafaţa particulelor de sol.

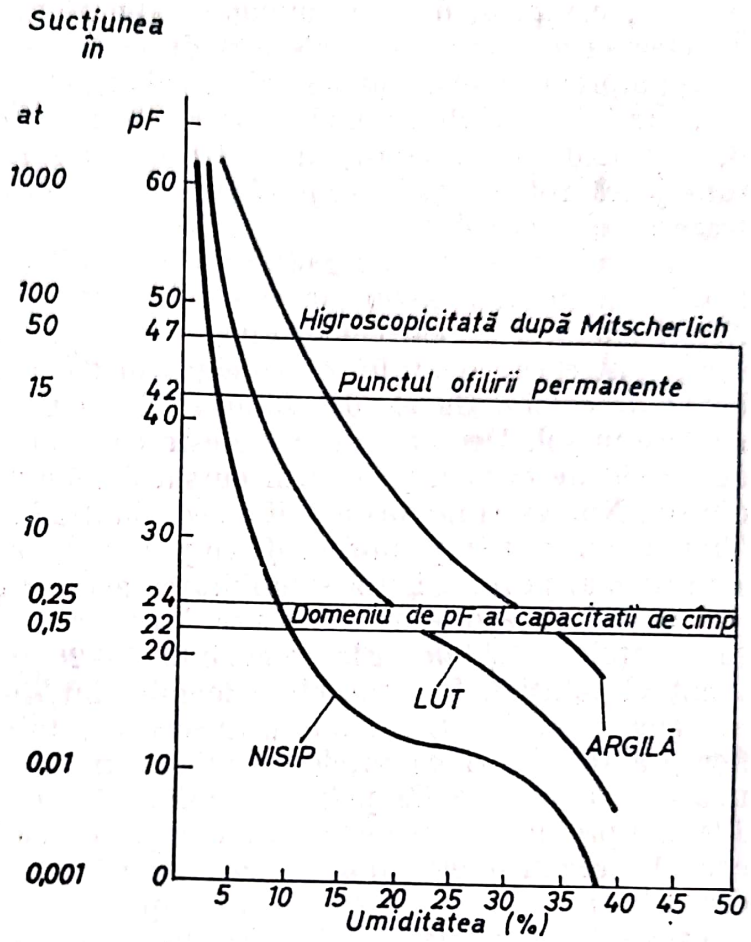


Fig. 32. Valoarea pF în diferite soluri (după S c h e f f e r, 1953)

Valoarea pF diferă mult de la un sol la altul. S c h e f f e r (1953) a calculat curbele pF a trei soluri diferite (fig. 32) şi a obţinut diferenţe foarte mari ale valorii pF, evidente în special în domeniul capacităţii de cîmp pentru apă a acestor soluri.

Apa din sol acţionează asupra microorganismelor nu numai prin cantitatea şi accesibilitatea sa, ci şi prin compoziţia chimică. Ea conţine în stare dizolvată numeroase substanţe organice şi anorganice, de mare importanţă în procesele metabolice ale microorganismelor. Se poate afirma că în circuitul elementelor în natură, apa este aceea care asigură transportul lor de la locul de formare la nivelul organismelor ce trăiesc în sol. Din acest punct de vedere se poate aprecia rolul apei din sol ca fiind asemănător cu al sîngelui organismelor animale.

Apa din sol conţine săruri solubile la nivel molecular sau coloidal, de natură minerală, organică sau organo-minerală. Dintre compuşii minerali cei mai importanţi sînt sărurile de amoniu, nitraţii, nitriţii, carbonaţii, bicarbonaţii, clorurile, sulfaţii, fosfaţii de calciu, magneziu, sodiu sau

potasiu, compușii de fier, mangan, aluminiu, siliciu etc. S'nt prezente de asemenea microelementele atît de necesare în desfășurarea activității vitale a organismelor din sol : zinc, cobalt, cupru, vanadiu, bor, molibden etc. Gradul de solubilitate al acestor substanțe în soluția solului este variabil, depinzînd de numeroși factori pedoclimatici. Dintre aceștia temperatura joacă rol esențial și explică în esență variațiile sezoniere de concentrare a soluției solului.

Un rol deosebit îl au gazele prezente din soluția solului. Ele influențează solubilitatea sărurilor, mărind astfel gradul lor de accesibilitate. Astfel bioxidul de carbon dizolvat sub formă de acid carbonic mărește solubilitatea carbonatului de calciu prin transformarea acestuia în bicarbonat de calciu. Gazele din soluția solului provin din atmosferă sau iau naștere în sol. Deosebit de mare este conținutul de oxigen, dar mai ales de bioxid de carbon produs în cursul descompunerii substanței organice din sol. Numeroși factori modifică conținutul lor și gradul de solubilitate. Trebuie amintit în primul rînd temperatura care, cu cît este mai ridicată cu atît mai puțin asigură solubilitatea acestor gaze.

O altă categorie de substanțe, întîlnite în soluția solului, o formează substanțele coloidale. Ele reprezintă 5—20% din greutatea reziduului uscat al soluției. Substanțele coloidale sînt, în general, reprezentate de compuși organici. Se întîlnesc uneori sub formă coloidală hidroxizi de fier și aluminiu. Substanțele organice ajunse în soluția solului, sînt sintetizate și eliminate de plantele, animalele și microorganismele din sol. Ele mai provin, de asemenea, din compușii care iau naștere în sol în afara corpului organismelor animale sau vegetale, sintetizați de enzimele libere din sol. Din aceeași categorie a compușilor organici se mai întîlnesc în soluția solului substanțele humice, precum și sărurile lor. Soluția solului este din acest punct de vedere, mediu nutritiv pentru toate microorganismele din sol. Este evident deci că compoziția chimică a acesteia influențează atît sub raport cantitativ cît și calitativ viața acestora. Cu cît soluția solului este mai bogată în substanțe nutritive, cu atît activitatea vitală și dezvoltarea microorganismelor este mai intensă și mai multilaterală

2. CONȚINUTUL SOLULUI ÎN APĂ ȘI MICROORGANISMELE

Activitatea microorganismelor este puternic influențată de conținutul solului în apă.

Numeroase cercetări au demonstrat modificări importante atît în compoziția sistematică cît și în activitatea microorganismelor, odată cu variația umidității din sol. Printre primele preocupări în această direcție trebuie în primul rînd menționate lucrările lui Jensen (1934), care au arătat că atunci cînd în sol nivelul umidității scade, crește foarte mult raportul dintre numărul total de actinomicete și cel de bacterii. Observația de mai sus, confirmată ulterior și de alte cercetări, a stat la baza formulării concepției după care microorganismele dotate cu forme de rezistență au posibilități superioare de adaptare la condițiile nefavorabile.

Deosebit de sugestive la timpul lor au fost date publicate de Engberding (după Waksman, 1952) din care a rezultat că numărul

total de microorganisme creşte progresiv de la umiditatea de 6,5% pînă la 17,4%. Mai sus de acest nivel, aportul suplimentar de apă determină scăderea numărului total de microorganisme. Într-o lucrare recentă S e i f e r t (1969) scoate în evidenţă o serie de caracteristici ale diamicii numărului de microorganisme în funcţie de nivelul de umiditate (fig. 33). Autorul a remarcat că la valori de umiditate foarte scăzute (cca. 25% din capacitatea de cîmp), numărul total de microorganisme înregistrează creşteri mici, după care urmează un domeniu de creştere rapidă pînă în jurul valorii de 50% din capacitatea de cîmp. De la această valoare în sus creşterea este progresiv încetinită, pentru ca la 70 % din capacitatea de cîmp, surplusul de apă să nu mai influenţeze numărul total.

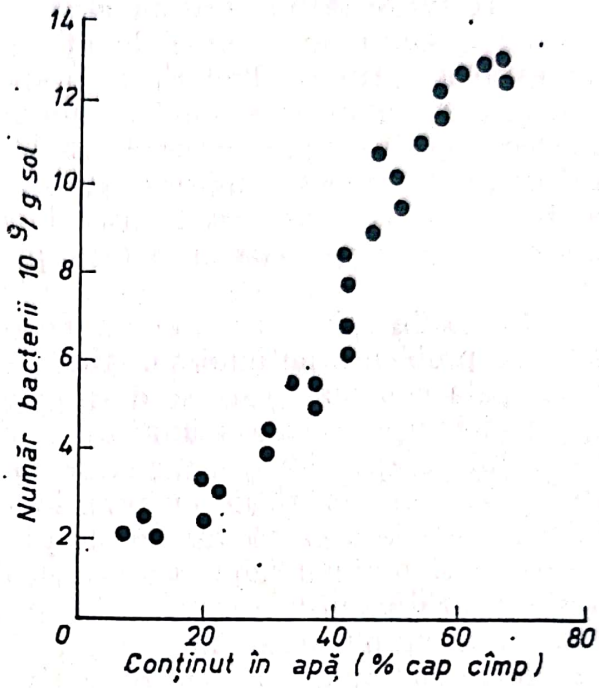


Fig. 33. Dependenţa numărului de bacterii de umiditatea solului (după S e i f e r t, 1969)

După R a h n (1913) intensitatea activităţii microorganismelor depinde în foarte mare măsură de grosimea peliculei de apă care se află la suprafaţa particulelor de sol. Această peliculă poate avea diferite grosimi, în funcţie de aceasta existînd şi o activitate diferenţiată de la o specie la alta de microorganisme. Pentru *Bacillus mycoides* de pildă, activitatea maximă corespunde unei pelicule groase de 20—40 microni.

2.1. INFLUENŢA UMIDITĂŢII SCĂZUTE ASUPRA MICROORGANISMELOR

Din numeroasele aspecte pe care le ridică prezenţa şi mişcarea apei în sol, problema nivelului minim a căpătat de-a lungul anilor un interes primordial. Existenţa unor zone întinse cu precipitaţii insuficiente sau neuniform distribuite în cursul anului, a generat un număr impresionant de cercetări care au căutat să stabilească în primul rînd care sînt nevoile minime în apă ale plantelor de cultură. Nu este cazul să insistăm asupra concluziilor obţinute, menţionînd numai că întreaga tehnică a irigării este astăzi fundamentată de toate cercetările intreprinse în direcţia arătată mai sus.

Dar problema nivelelor minime de umiditate vizează nu numai creşterea şi dezvoltarea plantelor, ci şi întregul complex de însuşiri ale solului, cunoscut sub numele de fertilitate. Dintre acestea, viaţa din sol şi desfăşurarea ei, a suscitat un interes crescînd pe măsura cunoaşterii importanţei factorului biologic în viaţa solului.

Scanned with OKEN Scanner

Cercetările intreprinse au arătat încă de la început că asemănător plantelor, cerinţele minime de apă ale microorganismelor diferă de la un grup la altul şi chiar de la o specie la alta. Pentru exemplificare merită a fi subliniat studiul amănunţit de sinteză intreprins de Mc. Laren şi Skujins (1968). Se arată că între bacteriile nitrificatoare există forme diferit adaptate Autorii remarcă gradul înalt de rezistenţă al bacteriei *Nitrosomonas* la uscăciune. Acest microorganism a putut fi întîlnit în solurile foarte uscate după mulţi ani, fără a-şi pierde viabilitatea.

Lucrările lui Dommergues (1962) aduc o contribuţie deosebită la problema acţiunii umidităţii scăzute asupra microorganismelor. Principala concluzie care se desprinde din aceste lucrări, este că activitatea biologică globală a unui sol tinde să scadă odată cu scăderea conţinutului de apă, dar contrar celor observate la plante, punctul de ofilire (pF = 4,2) nu constituie un prag indicator al încetării activităţii microbiene. Dacă la această valoare de pF anumite grupe de microorganisme încetează să mai participe la procesele din sol, altele continuă să fie active, deşi cu un dinamism scăzut, chiar şi la valori de pF mai mari de 5. În baza unui amplu material studiat, Dommergues (1962) apreciază că limita superioară a oricărei activităţi biologice corespunde la pF = = 5,5 — 5,6. Uscarea solului la valori de pF superioare acestui nivel antrenează moartea tuturor microorganismelor.

Problema abaterii microorganismelor de la cerinţele pe care le manifestă plantele superioare în ceea ce priveşte cantitatea minimă de apă este în prezent un aspect insuficient elucidat. Sufragiile majorităţii celor ce au studiat această problemă converg spre convingerea că această diferenţă se explică în primul rînd prin presiunea osmotică mai ridicată care există în interiorul celulelor microbiene. În al doilea rînd, faptul că plantele pierd prin transpiraţie în atmosferă o parte din apa pe care o absorb, în timp ce pierderile pe această cale sînt neglijabile la microorganisme. În al treilea rînd, faptul că suprafaţa de absorbţie a apei pentru o masă protoplasmatică egală, este mai mare la microorganisme decît la plante.

În general, la umidităţi scăzute, moartea microorganismelor este determinată de următorii factori:

— durata uscării;

— nivelul uscării (cu cît pF-ul este mai ridicat cu atît posibilităţile de distrugere a microbilor sînt mai mari);

— tipul microorganismelor;

— tipul de sol (în solurile argiloase microorganismele se conservă mai bine, deoarece argila exercită un efect protector faţă de acţiunea letală a uscării).

Dintre factorii citaţi mai sus, tipul microorganismului se impune în mod deosebit atenţiei, avînd în vedere consecinţele pe care le are în practica agricolă activitatea lor.

Numeroase studii intreprinse în această direcţie au permis gruparea microorganismelor, în funcţie de nevoile minime în apă, în următoarele grupe:

a. grupa microorganismelor *hiperxerofile*. Această grupă cuprinde germeni al căror prag este superior valorii de pF = 4,9. În această cate-

gorie intră majoritatea microorganismelor amonificatoare, amilolitice şi cele ce degradează substanţele vegetale complexe;

b. grupa microorganismelor *xerofile*. Include microorganisme al căror prag este cuprins între pF = 4,9 — 4,2. În această categorie se încadrează germenii care degradează celuloza, oxidează sulful, o parte din microorganismele amilolitice, din amonificatorii ureei şi cele care nitrifică sulfatul de amoniu;

c. grupa microorganismelor *higrofile*. Cuprinde germeni al căror prag este inferior valorii pF = 2. În această categorie intră microorganismele care descompun carboximetilceluloza, cele care fixează azotul atmosferic şi o parte din nitrificatorii sulfatului de amoniu.

Limita între pragurile menţionate mai sus depinde, după cum s-a menţionat, de natura substanţei metabolizate şi de tipul de sol. Se pot astfel pune în evidenţă praguri de amonificare diferite, după cum se încorporează în sol tirozină, cazeină sau substanţe vegetale cu compoziţie complexă.

Tipul de sol determină la rîndul său valori diferite ale pragului de pF pentru diferitele procese microbiene. De exemplu, nitrificarea sulfatului de amoniu poate avea loc în funcţie de tipul de sol la valori pF cuprinse între 4,6 şi 3,6.

Existenţa pragurilor diferite ridică probleme deosebit de interesante din punct de vedere practic. Astfel una din cele mai importante consecinţe ale acestui fapt rezidă în predominarea selectivă a unor procese faţă de altele. Aceasta se întîmplă în cazul umidităţilor situate în vecinătatea punctului de ofilire, cînd predominarea proceselor de celuloliză asupra amonificării şi nitrificării, are drept urmare practică imobilizarea totală sau parţială a azotului mineral.

De asemenea importante consecinţe cu caracter nefavorabil generează, în cazul umidităţilor scăzute, predominarea proceselor de amonificare faţă de cele de nitrificare. Aceasta antrenează o acumulare importantă a azotului amoniacal, fapt ce se remarcă curent „in situ" în solurile în curs de uscare.

Gradul diferit de rezistenţă la uscăciune apare mult mai evident la unele grupuri sistematice mari de microorganisme. Ciupercile şi bacteriile sînt mult mai sensibile, comparativ cu actinomicetele. După Alexander (1961), conţinutul redus de apă al solului favorizează atît dezvoltarea vegetativă a actinomicetelor, cît şi formarea sporilor. În această direcţie, merită a fi semnalată observaţia făcută de Meiklejohn (1957) cu ocazia unei secete foarte avansate din Kenia. Înainte de secetă, actinomicetele reprezentau mai puţin de 30% din numărul coloniilor dezvoltate pe mediile de cultură. După perioada de secetă, numărul lor a reprezentat 90%. Alexander (1961) consideră că la actinomicete, efectul umidităţii scăzute este asociat cu deosebita rezistenţă a sporilor.

Comparativ cu actinomicetele, ciupercile au un grad de sensibilitate mult mai pronunţat faţă de lipsa de apă. La nivele de apă suboptimale, numărul lor corelează pozitiv cu umiditatea. În această direcţie însă,

Scanned with OKEN Scanner

Atkinson (1954) consideră că nu toate speciile de ciuperci prezintă această particularitate. În timp ce *Fusarium oxysporum* prezintă o sensibilitate mare, *Rhizopus nigricans* este foarte rezistent.

2.2. INFLUENȚA UMIDITĂȚII RIDICATE ASUPRA MICROORGANISMELOR

În sol, nivelele excesive de apă reduc, de regulă, atît frecvența cît și activitatea microorganismelor. După cum s-a precizat mai sus, aceasta se datorește unei mai slabe circulații a aerului, ce are drept consecință reducerea posibilităților de aprovizionare cu oxigen. Dacă la umidități scăzute, adaosul de apă are o influență profundă asupra microorganismelor, adăugarea apei la nivele de umiditate apropiate de optimum, determină schimbări foarte mici. În această direcție, Miller și Johnson (1964) au arătat că în solurile menținute la un grad înalt de umiditate, bacteriile nitrificatoare nu reacționează la adaosul de apă. Justice și Smith (1962) au precizat, iar apoi lucrările lui Bartlet (1965) și Parker și Larson (1965) au confirmat, existența și valoarea pragului de umiditate, peste care suplimentarea cu apă nu mai provoacă o creștere a nitrificării. Anterior însă, lucrările lui Traaen (1931) au adus o contribuție esențială la problema raportului aer/apă necesar desfășurării optime a acestui proces. Autorul arată că nivelul optim de umiditate pentru microorganisme corespunde valorii egale cu jumătate din capacitatea de cîmp a solului. Surplusul de apă peste această limită împiedică buna circulație a aerului. Bacteriile nitrificatoare, germeni strict aerobi, au nevoie în mediu ambiant de o mare cantitate de oxigen, corespunzătoare unei concentrații de 40 — 50%. Această concentrație este necesară atît pentru nevoile lor proprii, cît și pentru activitatea celorlalte grupe de microorganisme, din a căror activitate metabolică rezultă bioxidul de carbon în sol.

Bacteriile nitrificatoare care nu utilizează decît carbonul mineral, au nevoie de cantități mari de bioxid de carbon, care nu poate fi procurat decît pe baza unei concurențe strînse în ceea ce privește oxigenul din sol. Concluziile lui Traaen au fost confirmate mai recent de lucrările lui Brandt și colab. (1964). La noi în țară, problema relației dintre aer și apă, în legătură cu condițiile fizice din sol, a fost abordată de Hulpoi și colab. (1966), care au urmărit capacitatea de nitrificare a solului la diferite nivele de umiditate și grade de tasare. Autorii au constatat că la solurile afînate și foarte afînate(G.V. = 1,08 — 1,20 $g.cm^{-3}$) există o proporționalitate directă între producerea nitraților și umiditate, pînă la valori apropiate sau chiar superioare capacității de cîmp (fig. 34).

În cazul solurilor cu un grad avansat de tasare (G. V. mai mare ca 1,44—1,60 $g.\ cm^{-3}$) nivelul optim de umiditate necesar desfășurării procesului de nitrificare se găsește cu mult mai jos.

Pentru bacteriile amonificatoare Loehnis și Green au stabilit încă din 1914, constantele optime de umiditate și aerație. Autorii au constatat (tab. 21) că excesul de umiditate are o acțiune net defavorabilă acestor microorganisme. Experimentînd pe modele cu valori diferite ale raportului suprafață/volum, au remarcat că prin mărirea acestui

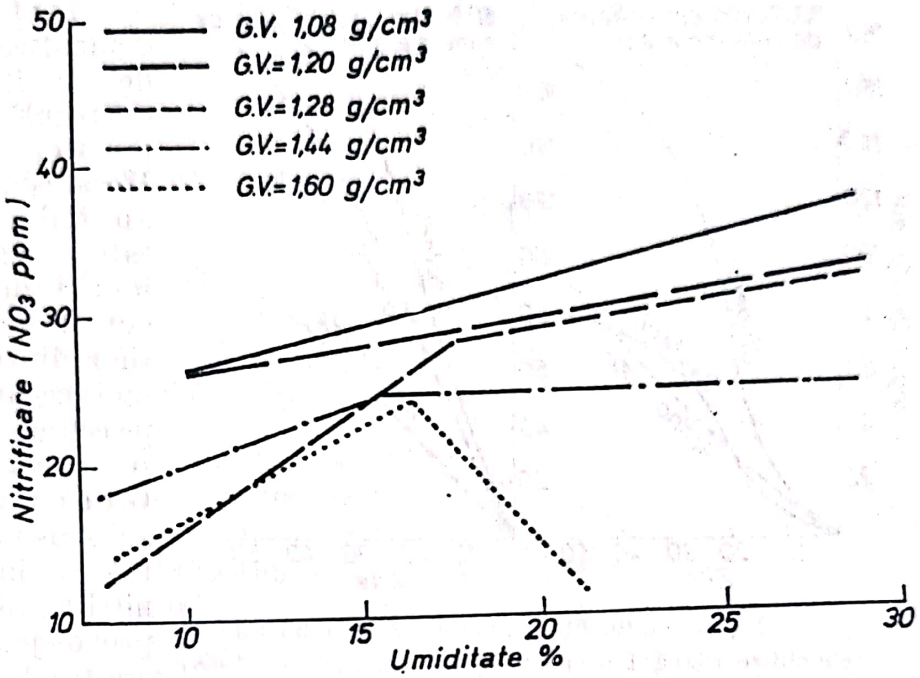


Fig. 34. Influenţa umidităţii asupra nitrificării (după H u l p o i şi colab., 1966)

raport de la 1/4 la 6/1, capacitatea de amonificare creşte foarte mult în primele 10 zile la nivelele de umiditate de 40 şi 70% din capacitatea de cîmp şi scade vizibil la valori egale cu capacitatea de cîmp.

Pentru microorganismele celulolitice este greu de precizat în general modul lor de comportare la diferite umidităţi. Aceasta se datoreşte în primul rînd faptului că ele reprezintă din punct de vedere sistematic un grup heterogen de microorganisme cu exigenţe diferite faţă de apă. Figura 35 scoate în evidenţă faptul că, în timp ce actinomicetele celulolitice reacţionează slab la aportul de apă, bacteriile şi ciupercile sînt foarte sensibile.

Tabelul 21

Amonificarea (ppm $N-HN_3$) în funcţie de umiditate şi aeraţie (după L o e h n i s şi G r e e n, 1914)

Concentraţia	Durata în zile	Raport suprafaţă /volum					
		6/1			1/4		
		umiditate (%)					
		40	70	100	40	70	100
0,2	10	40	40	4	15	—	7
	40	55	60	6	55	45	13
2,0	10	25	25	4	30	—	6
	40	50	50	1	50	30	4

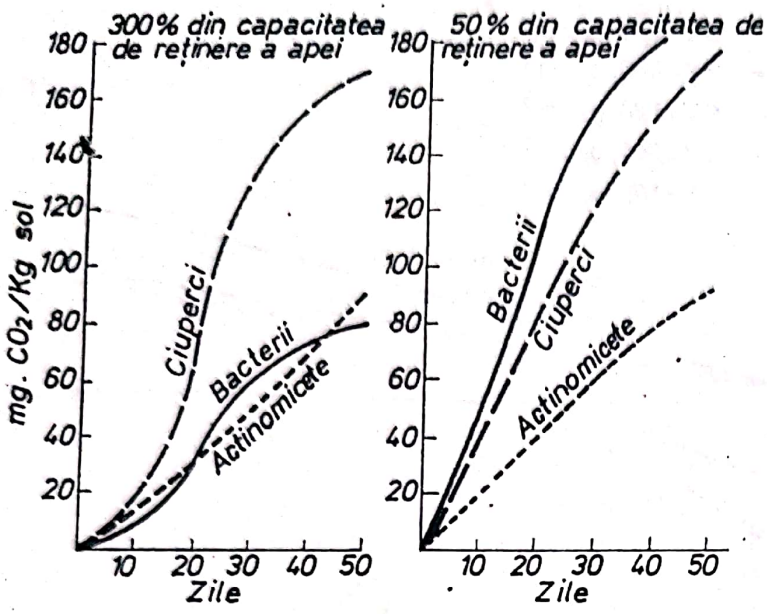


Fig. 35. Influența umidității asupra microflorei celulolitice (după Pochon și de Barjac, 1958)

Pentru bacteriile denitrificatoare excesul de umiditate reprezintă de regulă un factor stimulator al activității. Mecanismul prin care apa influențează intensitatea denitrificării este însă insuficient cunoscut. Majoritatea cercetărilor, dintre care de dată mai recentă le semnalăm pe cele ale lui Bremner și Shaw (1958) și Greenwood (1962), au scos în evidență faptul că intensitatea denitrificării, măsurată prin dispariția nitraților, crește odată cu nivelul de umiditate superior capacității de cîmp. Mahendrappa și Smith (1967) consideră însă că efectul apei în exces asupra denitrificării nu poate fi atribuit în întregime efectului înlocuirii oxigenului din sol. Lucrînd în condiții de totală anaerobioză, pe sisteme închise și deschise, autorii au constatat că ridicarea umidității peste capacitatea de cîmp determină și creșterea timpului necesar pentru o completă denitrificare. În toate cazurile, producerea cea mai intensă de azot s-a înregistrat la umidități egale sau foarte apropiate de capacitate cîmp, cu reducerea intensității deasupra și sub acest punct. Aceasta s-ar putea explica prin faptul că nivelul de umiditate afectează probabil contactul dintre microorganisme și compușii solubili, cu funcție de acceptor de electroni și controlează, de asemenea, mișcarea gazelor în sol. La nivele de umiditate apropiate de capacitatea de cîmp, atît umiditatea solului, cît și acceptorii de electroni sînt probabil mai repede și uniform distribuiți în sol.

Contrar cu ceea ce s-ar putea crede, umiditatea excesivă a solului nu induce în mod obligatoriu în sol dezvoltarea exclusivă a proceselor anaerobe. În realitate, în solul submers se desfășoară toate tipurile de metabolism, de la metabolismul tipic aerob pînă la anaerobioza strictă. Din acest punct de vedere, ipoteza lui Oelsner, formulată în 1918, după care solurile saturate în apă sînt medii sigure pentru procesele de anaerobioză, este o inexactitate.

Schematic se pot distinge trei tipuri de activitate biologică în astfel de condiții și anume:

a. **Hidromorfismul aerob.** Se desfășoară fie la începutul imersiunii în ansamblul profilului, fie în cursul submersiunii în orizonturile foarte superficiale, unde schimburile de gaze cu atmosfera sînt facile și unde flora acvatică și microflora fotosintetizantă (algele) pot contribui eficient la aprovizionarea cu oxigen din pătura de apă care acoperă solul. Acest

tip de hidromorfism este caracteristic microorganismelor aerobe de toate tipurile şi, în special, celor ce intervin în nitrificare şi în fixarea aerobă a azotului atmosferic.

b. **Hidromorfismul aerob moderat.** Este foarte răspîndit şi comportă diferite grade. În cazul în care anaerobioza este slabă se manifestă cu intensitate procesele de denitrificare. Pe măsură ce anaerobioza se intensifică, apar procesele de reducere ale manganului şi fierului. Se consideră că în special fenomenele ce au drept urmare reducerea fierului sînt tipice acestui tip de hidromorfism.

c. **Hidromorfismul anaerob strict.** Se întîlneşte rar în solurile cultivate. Este caracteristic terenurilor inundate de mult timp. În astfel de condiţii potenţialul oxido-reducător al solului scade foarte mult (0—200 mv). Sulfaţii din sol pot fi reduşi la hidrogen sulfurat de către bacteriile sulforeducătoare. În unele cazuri se observă şi o producere intensă de metan şi hidrogen rezultaţi din reducerea acizilor graşi.

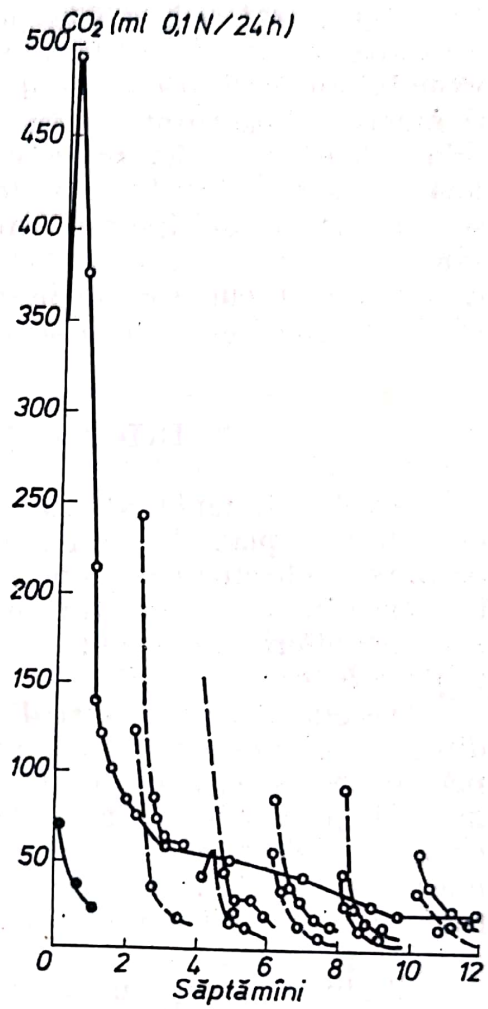


Fig. 36. Respiraţia solului umectat şi reumectat (după van Schreven, 1967)

În sfîrşit, ar mai trebui relevat un aspect cu implicaţii practice deosebit de importante în cazul solurilor irigate. S-a constatat în 1945 de către Gooding şi Mc. Calla că uscarea şi reumectarea ritmică a solului activează microflora, comparativ cu cea dintr-un sol menţinut la un nivel constant de umiditate. Pe linia acestor preocupări, Waksman a arătat că pe măsură ce se prelungeşte perioada de uscăciune, reumectarea produce o stimulare mai accentuată a numărului de microorganisme, a producerii de bioxid de carbon şi mineralizării azotului. Legat de acest aspect Gasser (1961) şi Cornfield (1964) consideră totuşi că o perioadă mai lungă de 12 săptămîni de păstrare în stare uscată la aer, urmată de reumectare, are efect scăzut asupra activităţii bacteriilor nitrificatoare. În ceea ce priveşte numărul de reumectări susceptibile de a provoca sporirea activităţii microorganismelor, lucrările lui Van Schreven (1967) au demonstrat că numai primele 2—3 reumectări intensifică producerea de bioxid de carbon (fig. 36).

Referitor la mecanismul acestui fenomen, Cooke şi Cunningham (1958) sînt de părere că uscarea urmată de reumectare sparge particulele de sol, expunînd în felul acesta suprafeţele noi create, acţiunii

Scanned with OKEN Scanner

bacteriene. Birch (1958) lucrînd cu sol uscat şi supus reumectării repetate, constată că fiecare uscare a solului provoacă o creştere a ritmului mineralizării azotului. Nivelul azotului mineralizat s-a dovedit a fi funcţie a logaritmului tipului de uscare anterior umezirii. În afara rolului atribuit noilor suprafeţe rezultate în urma fragmentării particulelor de sol, Birch consideră că intensificarea proceselor microbiene se datoreşte şi multiplicării rapide a microflorei ce are loc după reumectare. După Stevenson (1957) gradul cu care activitatea metabolică creşte în solul reumezit este în relaţie directă cu concentraţia de aminoacizi şi alţi compuşi cu azot eliberaţi în cursul uscării la aer.

3. IRIGAREA SOLULUI ŞI MICROORGANISMELE

Nivelul de umiditate ridicat, corespunzător necesităţilor optime de dezvoltare a plantelor se realizează rar în condiţii naturale şi de multe ori în perioade cînd reacţia plantelor la acest factor este scăzută. De aceea, în zonele în care cantitatea de precipitaţii este insuficientă, sau repartizată neuniform în cursul anului, irigarea solului reprezintă unul din mijloacele cele mai eficiente pentru creşterea producţiei.

Desigur că tehnica actuală a irigaţiei s-a dezvoltat în primul rînd în directă legătură cu nevoile plantei de cultură, avîndu-se în mai mică măsură în vedere şi evoluţia solului sub aspectul însuşirilor de fertilitate naturală pe care le prezintă. De aceea, în numeroase cazuri atît perioada, cît şi normele de udare prin irigare nu corespund şi nevoilor optime ale microorganismelor. Datele puţin numeroase şi de multe ori contradictorii nu au oferit posibilitatea formulării unor concluzii definitive în această privinţă.

Studiul influenţei irigaţiei asupra microorganismelor reclamă tehnici de lucru adecvate, de multe ori foarte diferite de cele folosite în cazul altor factori. Aceasta decurge din faptul că apa de irigare, în afara efectului direct asupra microorganismelor acţionează şi indirect, prin modificarea indicilor fizici şi chimici ai solului. Ca o primă consecinţă, atunci cînd se urmăreşte activitatea globală a microorganismelor (absorbţia de oxigen sau degajarea de bioxid de carbon) este recomandabil ca aceasta să se facă direct în cîmp, în ambianţa tuturor modificărilor pe care le aduce apa de irigare. În situaţia în care se urmăresc indici biologici care necesită perioade de incubare în laborator (amonificare, nitrificare, denitrificare, celuloliză), probele de sol trebuie recoltate în aşa fel, încît să se păstreze caracteristicile fizico-chimice ale solului natural. Problema recoltării probelor de sol în structură naturală este un aspect care a scăpat, de regulă, microbiologilor în majoritatea lucrărilor efectuate în această direcţie. Aceasta a dus de multe ori la interpretarea unor date ireale, care nu ţineau seama tocmai de modificările esenţiale survenite în structura solului ca urmare a irigării.

În al doilea rînd, este cunoscut faptul că tehnica actuală de administrare a apei de irigare, determină variaţii de umiditate foarte mari la variantele cu regimuri scăzute de irigare şi mai mici la cele cu regimuri ridicate. Aceasta se datoreşte faptului că apa administrată — indiferent

de regimul de irigare—se aplică iniţial la valoarea de umiditate corespunzătoare capacităţii de cîmp. De aci decurge şi faptul că numărul de udări necesare variantelor cu regimuri ridicate de irigare este mai mare decît cel necesar regimurilor de irigare mai scăzute. Din această cauză, în cazul unui studiu comparativ, efectuat în acelaşi moment, al unor regimuri de udări diferite, momentul analizei corespunde de cele mai multe ori cu valori de umiditate necaracteristice variantelor respective. În această situaţie microorganismele solului sau procesele pe care le determină, fiind foarte sensibile şi reacţionînd imediat la umiditatea solului, reflectă starea de moment a acestuia şi nu pe cea potenţială. În această situaţie, se impune ca analiza microbiologică să fie efectuată — în cazul studiului comparativ al mai multor variante — decalat şi anume în momentele cînd fiecare variantă atinge nivelul caracteristic de umiditate. În acest caz însă, este posibil ca diferenţele valorice ale diferitelor momente să fie consecinţa cumulării efectului atît al factorului experimental urmărit — în speţă irigarea — cît şi variaţiei temporare a microorganismelor datorită altor factori.

O trecere sumară în revistă a cercetărilor efectuate în această problemă ne arată, în general, existenţa unei relaţii strînse între irigare şi microflora solului. Unele lucrări a arătat că această influenţă este cu atît mai evidentă, cu cît solul este supus irigării timp mai îndelungat. Astfel Abrozova şi colab. (1965) experimentînd timp de 7 ani la nivele de umiditate foarte ridicate, au remarcat o trecere progresivă de la procesele aerobe la cele anaerobe. Numeroase concluzii asemănătoare au orientat studiile de microbiologie spre precizarea valorilor optime ale regimului de irigare, în care activitatea microorganismelor să nu fie stînjenită. Lucrările în această direcţie, au evidenţiat de multe ori valori diferite, explicabile prin cerinţele variate în apă ale grupelor de microorganisme studiate. În ceea ce priveşte activitatea biologică globală a solului, lucrările lui Katznelson şi Stevenson (1956) au scos în evidenţă o influenţă netă a irigării asupra consumului de oxigen. Lucrînd cu patru regimuri de irigare, autorii au arătat că pe măsură ce perioada de timp se măreşte, există o tendinţă marcată de diferenţiere a variantelor. Figura 37 scoate în evidenţă că nu este vorba de un nivel optim de umiditate, ci de un domeniu cuprins între 60 şi 80% din capacitatea de cîmp. Sub valoarea de 60%, orice scădere a cantităţii de apă determină diminuarea corespunzătoare a activităţii microorganismelor.

Într-un sol irigat de 80% din capacitatea de cîmp, Engberding (1909) a găsit cel mai ridicat număr de microorganisme. De la acest nivel de umiditate apariţia condiţiilor de anaerobioză împiedică multiplicarea microorganismelor. Alexander (1961) consideră că nivelul optim pentru activitatea bacteriilor aerobe se găseşte la valori ale regimului de irigare mai scăzute şi anume la 50—70% din capacitatea de cîmp.

Hulpoi şi colab. (1966) au studiat timp de mai mulţi ani influenţa a patru regimuri de irigaţie asupra microorganismelor din sol. Autorii au remarcat în primul rînd, că nu există un efect cumulat propriu-zis al irigării asupra microorganismelor. Efectul apei de irigare apare imediat în variantele irigate şi dispare îndată ce umiditatea atinge

Scanned with OKEN Scanner

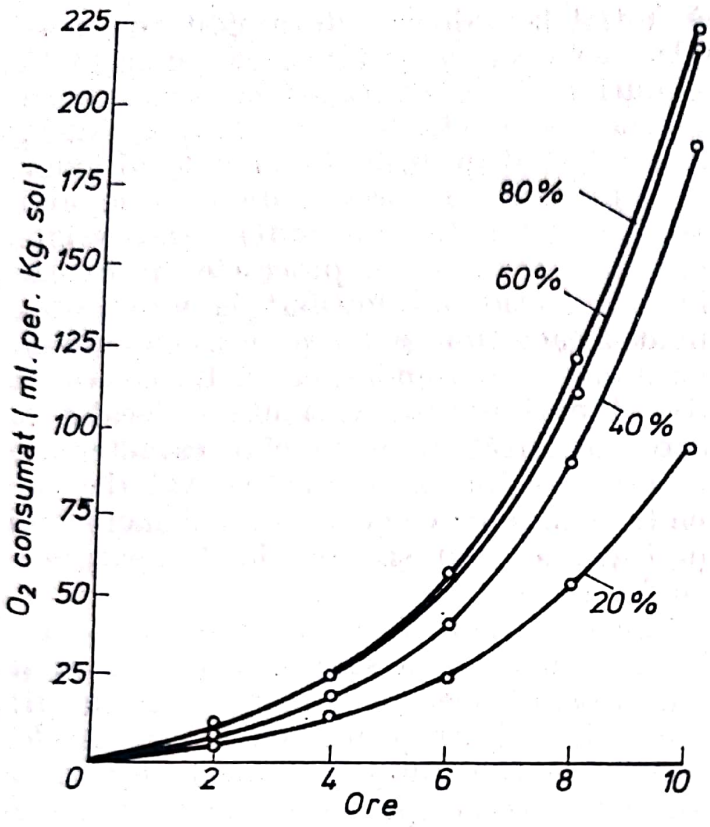


Fig. 37. Influenţa irigaţiei asupra respiraţiei solului (după K a t z n e l s o n şi S t e v e n s o n , 1956)

nivelul variantelor neirigate. Concluzia este în mare măsură întărită de faptul, că în fiecare primăvară înaintea administrării primei udări, cîmpul experimental a fost uniform în ceea ce priveşte activitatea microorganismelor. S-a remarcat totodată că în cursul primăverii, efectul irigării este, de regulă, de intensitate scăzută. Aceasta se datoreşte faptului că în primăvară se găseşte în sol o cantitate suficientă de apă provenită din precipitaţiile din timpul iernii. Activitatea bacteriilor nitrificatoare nu s-a diferenţiat în funcţie de regimul de irigare în perioada de primăvară. Diferenţele mici, înregistrate în această perioadă, sînt nesemnificative.

Odată cu scăderea umidităţii solului la valori în jur de 15 % sau mai mici, cauzată de perioadele de secetă din timpul verii, influenţa irigaţiei asupra microorganismelor devine evidentă. Nevoia de apă a microflorei în această perioadă este maximă, ea fiind principalul element care dirijează întreaga activitate a solului. Din datele prezentate în tabelul 22 rezultă o diferenţiere netă a solului irigat la diferite nivele, comparativ cu solul martor. Numărul total de microorganisme prezintă valori maxime în varianta A_1, care fiind irigată mai recent a avut şi o umiditate superioară. În general, s-a putut constata în perioadele de secetă, o proporţionalitate directă între nivelul umidităţii şi numărul

Tabelul 22

Numărul total de microorganisme (milioane la g sol) în funcţie de regimul de irigare (după H u l p o i şi colab., 1966)

Varianta de irigare (%) din capacitatea de cimp	Umiditatea (%)	Număr total microorganisme	Semnificaţia diferenţei
A_1 30 %	28,5	92,4	a
A_2 40 %	24,0	72,8	b
A_3 65 %	27,6	81,4	ab
A_4 80 %	24,0	72,8	b
Neirigat	14,0	56,4	c

total de microorganisme. La valori de umiditate în jur de 14% corespunzătoare variantei neirigate, numărul total de microorganisme înregistrează valori minime în jur de 55 milioane /g sol, în timp ce la 24—25% umiditate, media valorilor obţinute se situează în jur de 73 milioane. Cu ocazia acestor analize s-a constatat că şi evoluţia cantitativă a bacteriilor sporulate este dependentă de irigarea solului. În cadrul acestui grup de microorganisme s-a remarcat însă o proporţionalitate inversă. Umiditatea scăzută favorizează trecerea formelor vegetative sub formă de spori, ce are drept urmare creşterea numărului lor în sol. Nivelele ridicate de umiditate, caracteristicile variantelor irigate, în jur de 25% (optimum), asociate cu temperaturile ridicate din timpul verii, favorizează germinarea sporilor, trecerea lor în stare vegetativă. Dintre bacteriile sporogene, *Bacillus megaterium* este foarte sensibil faţă de cantitatea apei de irigare. În solul neirigat, proporţia de spori ai acestei specii este întotdeauna mai ridicată comparativ cu solul neirigat.

O evoluţie asemănătoare prezintă şi actinomicetele. Se confirmă astfel majoritatea datelor din literatură, după care aceste microorganisme sînt puţin sensibile la creşterea umidităţii şi prezintă un grad avansat de rezistenţă la uscăciune.

Cantitatea de apă imprimă modificări şi în ceea ce priveşte compoziţia specifică a microflorei solului. Dintre ciuperci, se constată o abundenţă a reprezentanţilor genului *Penicillium* şi *Fusarium*. În general, se face remarcată frecvenţa mai ridicată a ciupercilor fitopatogene. Acest fapt ridică probleme cu importante implicaţii practice legate de combaterea acestor microorganisme în condiţii de irigare. Alte specii de ciuperci, cum sînt cele din genurile *Trichoderma*, *Alternaria* şi *Aspergillus*, sînt în mică măsură, sau deloc influenţate de regimul de irigare.

4. IRIGAREA CU APE REZIDUALE

Ritmul considerabil de dezvoltare a centrelor populate, a industriilor de tot felul, a unităţilor agricole etc. determină un consum tot mai mare de apă potabilă sau industrială şi deci evacuarea unui volum din ce în ce mai mare de ape uzate. Pe de o parte lipsa de apă din anumite zone, iar pe de altă parte necesitatea de a nu deversa apele uzate în cele de suprafaţă ca să nu le impurifice, au impus măsuri de purificare a acestora. Cum însă instalaţiile de purificare a apelor uzate sînt costisitoare, iar rezultatele nu prea satisfăcătoare, s-a recurs încă de mai multă vreme la purificarea lor prin intermediul solului. Solul, prin microorganismele pe care le conţine poate descompune numeroase substanţe care impurifică apele uzate şi totodată unele ape reziduale.

Pe terenurile irigate cu ape avînd un conţinut ridicat de substanţă organică este necesară accelerarea prin toate mijloacele a mineralizării acesteia. Pe de altă parte trebuie stimulate toate mijloacele de consumare a azotului nitric, inclusiv denitrificarea, pentru a împiedeca eutrofizarea apelor. Pe asemenea terenuri, sarcinile microbiologului de sol sînt exact contrare celor obişnuite în practia agricolă.

Scanned with OKEN Scanner

Cercetări microbiologice privind solurile irigate cu ape reziduale au fost efectuate în ţara noastră de P o p a , A n t o n i u şi colab. (1964) asupra solului de la Tuzla-Constanţa. Irigarea s-a făcut cu ape reziduale fecaloid-menajere. Analizele au fost efectuate începînd din aprilie şi pînă în octombrie, la o lună de la ultima irigare. În stratul de sol de la 35—55 cm (în zona drenurilor), în aprilie, înainte de începerea irigării, numărul bacteriilor coliforme nu a depăşit cîteva sute la gram de sol, iar în 17% din probe, bacteriile coliforme au fost absente. În perioada irigării (iulie-septembrie) a crescut numărul de bacterii coliforme (de zece ori, în 23% şi de zece mii de ori în 8% din probe).

La aproximativ o lună de la ultima udare, s-a constatat o revenire a numărului de bacterii coliforme la nivelul iniţial.

Pe adîncimea de la 20—100 cm, excluzînd zona drenurilor, înaintea perioadei de irigare, bacteriile coliforme au fost practic absente. În perioada irigării, s-a constatat o contaminare a acestei zone, valorile colimetriei variind între zeci şi sute de mii. La o lună după ultima udare s-a constatat o scădere apreciabilă.

În stratul de la suprafaţă (0—20 cm), înainte de perioada irigărilor, în 30% din cazuri, încărcarea de bacterii coliforme este de ordinul zecilor, iar în restul de 70% din cazuri, de ordinul sutelor la gram de sol. În perioada irigărilor, în 31% din probe s-a remarcat o încărcare suplimentară, atingînd valori de zeci de mii şi în foarte puţine cazuri (3%) valori de sute de mii la gram de sol. La o lună după ultima udare, se constată revenirea la situaţia premergătoare perioadei de irigare.

Comparînd valorile colimetriei în orizontul 0—20 cm pe cîmpul irigat prin drenuri în 1963, cu valorile aceluiaşi indicator, obţinute în anii 1962—1963 pe cîmpurile irigate prin brazde, cu şi fără adaos de îngrăşăminte, se observă că în timpul perioadei de irigare, cîmpul irigat prin brazde este în mod clar mai puternic impurificat decît cîmpul irigat prin drenuri. S-ar putea spune deci că impurificarea solului irigat prin drenuri a fost cu cel puţin 90% mai mică.

La o lună după ultima irigare se observă o scădere remarcabilă a impurificării solului, dar în timp ce în cîmpul irigat prin brazde valorile colimetriei nu au scăzut sub cifre de ordinul miilor la gram de sol, în cîmpul irigat prin drenuri, colimetria indică valori similare perioadei anterioare începerii irigării.

În ceea ce priveşte repartiţia microorganismelor saprofite în sol, se precizează că în cîmpul irigat prin brazde densitatea acestora a oscilat între valorile sute de mii-milioane, — cu unele excepţii, în sensul unei uşoare creşteri în perioada udărilor. Nu s-au constatat deosebiri semnificative între variantele cu şi fără îngrăşăminte chimice.

Autoepurarea este mai intensă la suprafaţa solului (0—10 cm). Distrugerea bacteriilor coliforme începe în primele ore după udare: în 65% din cazuri, autoepurarea a fost de 90%; iar 30 zile după udare, în 65% din cazuri, a fost de peste 99%. În stratul de sol de la 10—20 cm, procesul de autoepurare a fost mai lent. După 28 de zile de la udare, epurarea a fost mai mare de 99% doar în 36% din cazuri. La 50—70 cu adîncime, epurarea a fost şi mai lentă, ajungînd la 99% după 28 de zile de la udare, numai în 20% din cazuri.

Scanned with OKEN Scanner

Din cele 50 de analize de probe de plante (tulpini de porumb) și de sol, efectuate în mod comparativ la 3 cîmpuri din zonele Eforie, Tuzla și Mangalia, dintre care unul neirigat, altul irigat cu apă curată, iar al treilea irigat cu apă reziduală fecaloid-menajeră, rezultă, în ceea ce privește încărcarea cu bacterii coliforme a solului și suprafeței plantelor, că între cîmpul neirigat și cel irigat cu apă curată nu există o deosebire constantă și semnificativă, în timp ce pe cîmpul irigat cu ape reziduale, impurificarea este de la 10 la 100 de ori mai crescută.

V. INFLUENȚA ÎNGRĂȘĂMINTELOR ȘI AMENDAMENTELOR ASUPRA MICROPOPULAȚIEI SOLULUI

Îngrășămintele și amendamentele se introduc în sol pentru a influența pozitiv capacitatea lui productivă. Ele reprezintă un mijloc foarte eficace dacă sînt aplicate corect. În cele ce urmează se va arăta în ce fel aceste substanțe afectează activitatea microbiană a solului și care sînt implicațiile asupra fertilității acestuia.

1. FERTILIZAREA CU ÎNGRĂȘĂMINTE ORGANICE NATURALE

Îngrășămintele organice naturale se folosesc în practica agricolă de foarte mult timp. Ele acționează asupra productivității solului, atît direct, prin conținutul lor în substanțe nutritive, cît și indirect,prin ameliorarea stării sale fizice și a condițiilor de activitate a microorganismelor.

După diferiți autori, rolul îngrășămintelor organice este multiplu, exprimîndu-se prin acțiuni ca :

— limitarea retrogradării fosforului ;

— sporirea cantității de bioxid de carbon util plantelor în procesul de fotosinteză ;

— îmbogățirea solului în vitamine și în factori de creștere ;

— stimularea activității generale a microflorei ;

— intensificarea nitrificării ;

— ameliorarea structurii solului și înmagazinarea mai bună a apei în sol.

Importanța deosebită a îngrășămintelor organice naturale constă în aceea că ele constituie de fapt unica posibilitate prin care omul poate suplimenta baza energetică a tuturor proceselor biologice ce se desfășoară în sol. Se știe că „în pămînturile agricole, factorul minim pentru dezvoltarea microorganismelor îl reprezintă hidrații de carbon asimilabili... Activitatea generală a microorganismelor nu este în funcție de azotul asimilabil din sol, ci de hidrații de carbon asimilabili, care servesc ca izvor de energie" (H u l p o i , 1943). Această particularitate face „de neînlocuit îngrășarea organică și este greșit să se creadă că odată cu dezvoltarea industriei chimice, importanța gunoiului de grajd va trece pe plan secundar" (D a v i d e s c u , 1963).

Scanned with OKEN Scanner

Rolul îngrăşămintelor organice, introduse în sol, la menţinerea conţinutului acestuia în substanţe energetice este atestat de experienţe îndelungate.

Anderson şi Peterson (1973) au analizat situaţia unei monoculturi de porumb, veche de 60 de ani (1912—1972) şi care pînă în 1940 nu a primit nici un fel de îngrăşămînt. În primii 10 ani, producţia a scăzut de la 3 500 kg/ha la 1 200 kg/ha, nivel la care s-a stabilizat. Azotul total a scăzut în primii ani ai experienţei de la 0,10% la 0,04%, menţinîndu-se la acest nivel. Îngrăşămintele minerale administrate nu au influenţat semnificativ conţinutul solului în azot total, în timp ce gunoiul de grajd a fost capabil să-l ridice pînă la 0,08%.

Kolenbrander (1974) constată de asemenea creşterea conţinutului în humus al solului în urma îngrăşării organice. Creşterea (fig. 38) a fost corelată cu coeficientul de humificare al acesteia. Reuter (1974) a obţinut rezultate similare într-o experienţă de lungă durată.

Între cantitatea de azot şi cea de energie din sol există relaţii foarte strînse, exprimate prin constanţa raportului C : N. Datele obţinute pe experienţe de zeci de ani (Franţa, Anglia, URSS) au arătat că atunci cînd scade conţinutul de energie, scade şi cel de azot. De aceea, numai încorporarea de material organic poate menţine ridicat conţinutul solului în azot. Morel (1968), Handra şi Pop (1972) au pus în evidenţă o corelaţie strînsă între conţinutul solului în carbon şi azot (fig. 39). Necesitatea unui aport extern de energie în sol reiese din faptul că solul este un sistem consumator de energie. Datorită preponderenţei absolute a proceselor microbiene heterotrofe asupra celor autotrofe, menţinerea nivelului energetic ridicat al solului (a unui nivel scăzut al entropiei) depinde de aportul extern în energie.

În termodinamica modernă, starea entropiei determină două procese strict interdependente :

— nivelul energetic al unui sistem. Datorită faptului că toate procesele de transformare au loc cu pierdere de energie, cantitatea acesteia în fiecare sistem tinde să descrească (entropia sistemului tinde să crească) şi pentru reechilibrare este nevoie de aport extern ;

— gradul de neuniformitate a sistemului. Toate sistemele au tendinţa naturală spre uniformizare (spre creşterea entropiei). Menţinerea neuniformităţii sistemului cere, de asemenea, aport extern de energie. Solurile fertile se caracterizează printr-o mare heterogenitate, printr-un grad avansat de structurare, la toate nivelele, de la structura mecanică a agregatelor, pînă la complicatele structuri ale microbiocenozelor. În asemenea soluri consumul de material energetic este foarte mare (tendinţa de creştere a entropiei este foarte accentuată). Menţinerea structurilor solului cere o intensitate foarte mare a cuplului de procese producătoare-consumatoare de energie. Ansamblul de procese prin care solul reechilibrează permanent nivelul său energetic (reduce entropia) poate fi definit ca *fertilitate potenţială a solului*. Fertilitatea potenţială este deci cu atît mai mare cu cît intensitatea metabolizării energiei este mai mare. Acesta presupune însă un aport crescînd de energie din exterior, aport care se satisface numai în parte prin resturile lăsate de partea subterană a plantelor.

Scanned with OKEN Scanner

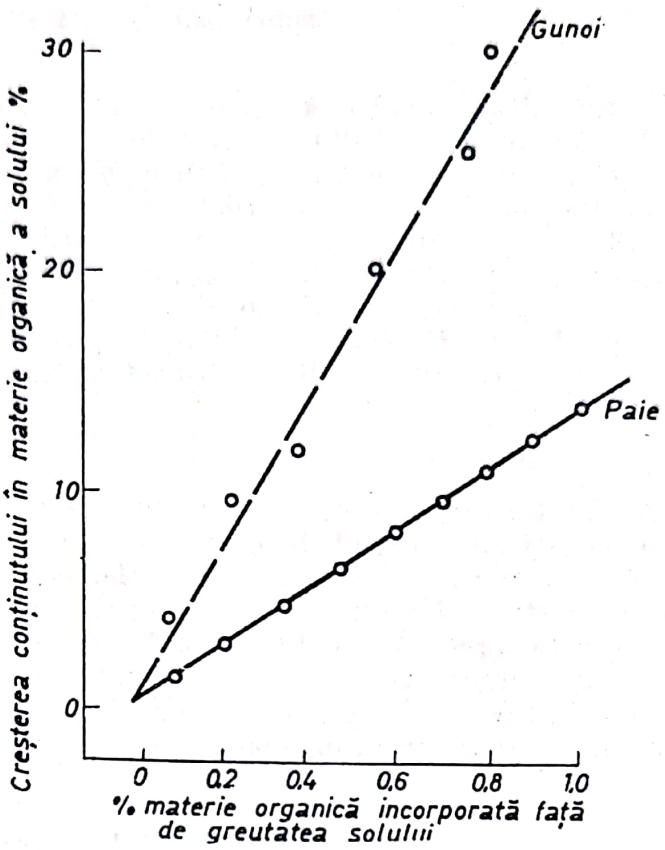


Fig. 38. Creşterea conţinutului în humus al solului în funcţie de doza de îngrăşământ organic aplicat (după K o l e b r a n d e r, 1974)

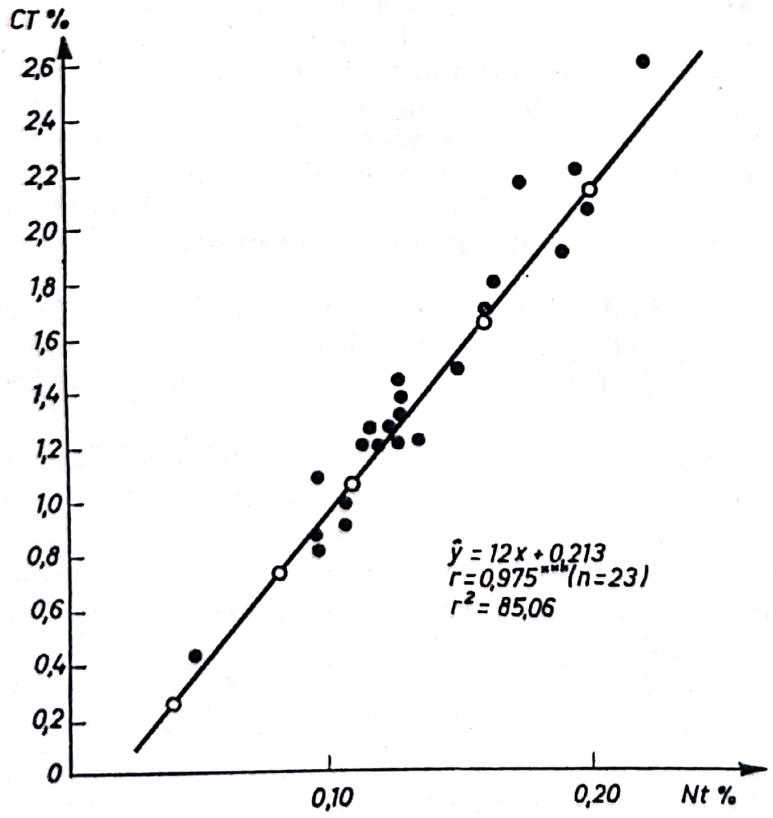


Fig. 39. Corelaţia între conţinutul solului în carbon şi azot (după H a n d r a şi P o p, 1972)

În agricultura modernă capătă o amploare crescîndă substituirea funcţiilor legate de fertilitatea efectivă a solului (productivitate) prin substanţe sintetice (în primul rînd prin îngrăşăminte minerale). În acest caz însă, creşterea continuă a producţiei vegetale şi utilizarea eficientă a îngrăşămintelor sintetice, este condiţionată, într-o măsură crescîndă de fertilitatea potenţială a solului, în primul rînd de menţinerea structurilor sale. Ştiinţa modernă a demonstrat că menţinerea structurii diferenţiate a populaţiei microbiene a solului, ca şi a agregatelor de sol, se poate realiza numai prin intermediul substanţei organice.

1.1. GUNOIUL DE GRAJD

Una din formele cele mai importante ale materiei organice introduse în sol o constituie gunoiul de grajd. Acesta posedă numeroase calităţi pentru fertilizare : sursă de numeroase elemente nutritive ; prin descompunere dă naştere bioxidului de carbon ; îmbunătăţeşte structura solului şi prin aceasta, creşte capacitatea solului de a reţine apa ; îmbogăţeşte solul cu microorganisme şi intensifică activitatea lor. Datorită tuturor acestor efecte favorabile, gunoiul de grajd, administrat împreună cu azot şi fosfor mineral, asigură, de obicei, cele mai mari sporuri de recoltă.

1.1.1 Gunoiul de grajd fermentat şi proaspăt

În compoziţia gunoiului de grajd intră în primul rînd glucidele (celuloze, hemiceluloze şi chiar zaharuri simple), precum şi pentozane şi lignine. Un rol foarte important îl au substanţele azotate din gunoiul de grajd, precum şi acizii, sărurile organice, taninurile etc. Compoziţia chimică a gunoiului diferă în funcţie de speciile de animale de la care provine. Gunoiul de cabaline şi ovine conţine mai mult azot şi substanţă uscată, de aceea se descompune mai repede. Dimpotrivă, cel de bovine şi porcine, fiind mai sărac în azot şi foarte umed, se descompune mai lent. Procentul de azot din gunoiul de grajd variază şi în funcţie de conţinutul în azot al furajelor consumate de animale.

Gunoiul de grajd este în mod natural supus unor procese complexe de descompunere, cuplate cu procese de sinteză a altor substanţe. Ansamblul acestor procese, în majoritate provocate de microorganisme, se numeşte fermentaţia gunoiului.

În gunoiul de grajd se găsesc de la început reuniţi ambii factori necesari unei fermentaţii : un material uşor de fermentat, precum şi microflora capabilă de a efectua acest proces. În agricultura primitivă acest aspect a fost ignorat, gunoiul fiind transportat la întîmplare în cîmp şi depozitat în mici grămezi, în aşteptarea îngropării lui sub brazdă. Ulterior, pornind de la observaţia că în acest mod au loc pierderi însemnate de substanţe fertilizante din gunoi (în special pierderi de azot), au apărut preocupări de valorificare optimă a acestui îngrăşămînt. Firește că pentru aceasta este nevoie de cunoaşterea exactă a proceselor de fermentaţie a gunoiului. În cursul fermentaţiei, substanţele cel mai uşor descompuse sînt cele bogate

Scanned with OKEN Scanner

în azot. Proteinele sînt hidrolizate la aminoacizi, care prin dezaminare duc la apariția amoniacului, ce se poate pierde prin volatilizare. Acidul uric, trecînd prin treapta intermediară de alantoină, se transformă în uree și acid glioxalic, iar acidul hipuric, în acid benzoic și glicocol. Glicocolul și ureea (componentă importantă a gunoiului de grajd) se descompun la rîndul lor tot cu producere de amoniac. Amoniacul produs poate fi protejat în mare parte de pierderea prin volatilizare, în măsura în care există suficient material energetic pentru reutilizarea lui. Descompunerile biologice sînt procese exoterme. Din acest motiv, gunoiul de grajd în timpul fermentării își ridică continuu temperatura. Fermentația începe cu procese aerobe exoterme, care au loc prin consumarea amidonului și hemicelulozelor din gunoi. Are loc o scădere a conținutului de oxigen și o creștere a temperaturii. În momentul în care oxigenul s-a consumat în totalitate, temperatura nu mai crește.

În cursul fermentației, populația microbiană a gunoiului suferă transformări în funcție de creșterea temperaturii. W a k s m a n și colab. (1939) arată că la începutul fermentării, cînd în platformă temperatura este în jur de 28°C, micropopulația este heterogenă, alcătuită din numeroase specii mezofile, cu dominanță bacteriană. Printre bacteriile celulolitice domină cele din genurile *Cytophaga* și *Cellvibrio*. Cînd temperatura în platformă atinge 50°C, se reduce numărul bacteriilor și crește cel al speciilor termofile și al actinomicetelor. Dintre ciuperci, în astfel de condiții, se întîlnesc frecvent: *Monotospora*, *Sepedonium*, *Acremoniella* și mai ales *Thermomyces*. La 65°C se întîlnesc bacterii celulolitice termofile. Ciupercile își reduc activitatea, în timp ce actinomicetele continuă să rămînă active. La 75°C, rămîn active numai bacteriile celulolitice termofile, iar la 80°C activitatea biologică încetează. În timpul fermentației scade conținutul de substanțe energetice (celuloze, hemiceluloze) și crește procentual conținutul de proteină și lignină. Această primă fază a fermentației gunoiului de grajd este denumită de P f e i f f e r „faza de deconstrucție". Cînd fermentarea gunoiului de grajd este destul de avansată, în gunoi se formează substanțe negricioase, cu aspect untos care pot fi atribuite sistemului substanțelor humice în accepțiunea pe care F l a i g o atribuie acestui termen. Această a doua fază este denumită de P f e i f f e r „faza de construcție". Firește că această împărțire în două faze este determinată în special de necesități de sistematizare și traduce o preponderență a unui tip sau altul de procese la un moment dat. În realitate, procesele de descompunere și sinteză au loc, mai mult sau mai puțin, simultan, energia eliberată în procesele de descompunere servind la realizarea celor de sinteză.

Este de la sine înțeles că fermentarea gunoiului trebuie să se realizeze cu pierderi minime de azot. W a k s m a n (1952) arată că pierderile sînt minime atunci cînd fermentarea se desfășoară la o umiditate de 50%. Pierderile de azot pot avea loc fie prin volatilizare (a azotului amoniacal), fie prin denitrificare (sub formă de azot gazos), fie prin levigare. Volatilizarea amoniacului este mai intensă la începutul fermentării și poate fi redusă prin menținerea în permanență a unei surse de material energetic accesibil și prin evitarea unei aerații intense. În felul acesta are loc o formare activă de acizi organici, care fixează amoniacul. Pierderile prin

Scanned with OKEN Scanner

denitrificare sînt în general reduse, deoarece în lipsa oxigenului, nici producerea nitraţilor nu poate atinge un nivel prea ridicat. Levigarea azotului se referă mai ales la compuşii purinici şi ea creşte pe măsura lungirii timpului de păstrare.

Modificarea condiţiilor de aeraţie induce transformările cele mai importante în fermentarea gunoiului de grajd. Studiile mai vechi privind fermentarea gunoiului de grajd, efectuate în Germania, au arătat că pierderile de substanţe fertilizante din gunoiul de grajd sînt cu atît mai mari cu cît fermentaţia are loc în prezenţa unei cantităţi mai mari de oxigen. Aceste date, care confirmă îndelungate observaţii empirice ale agricultorilor şi sînt susţinute de datele teoretice privind biochimia fermentării, au fost în întregime verificate de studiile clasice privind fermentarea gunoiului de grajd, întreprinse în deceniul al patrulea al secolului nostru de către W a k s m a n, C o r d o n şi H u l p o i (studii citate în toate manualele de specialitate din lume). Pe baza acestor cercetări s-a încetăţenit părerea că pentru o folosire judicioasă a gunoiului de grajd este necesară fermentarea sa în condiţii de aeraţie cît mai slabă. Această concluzie stă la baza tehnicilor K r a n z şi W ü r t t e m b e r g de fermentare a gunoiului în platforme largi şi înalte de peste 2 m, în care gunoiul este tasat pentru a înlătura cît mai mult aerul din platformă.

Totuşi, pentru a obţine în mod rapid un gunoi de grajd cu un grad avansat de humificare s-a recunoscut necesitatea fermentării în condiţii de relativă aerare a gunoiului de grajd. Acest tip de fermentare este considerat de către P f e i f f e r (1937 ; 1964) absolut necesar pentru obţinerea unui gunoi de bună calitate. De aceea el recomandă fermentarea gunoiului în grămezi piramidale cu baza dreptunghiulară (lată de 2,5 m şi înaltă de 1,5 m). Autorul consideră că numai în acest fel şi folosind la compostare unele preparate obţinute prin fermentaţii speciale, se poate obţine un gunoi de calitate superioară.

H u l p o i şi C l a u d i a n (1945) constată că gunoiul de grajd îşi reduce la jumătate greutatea în cursul fermentării. Pierderile de azot sînt ceva mai mici (sub 30%) decît cele de material energetic (40—42% pentru celuloză şi 47—66% pentru pentozane). De aceea, se observă o concentrare continuă a azotului în gunoiul ce rămîne (fig. 40). Trebuie observat că autorii se referă aci la gunoiul fermentat în condiţii anaerobe, la care pierderile trebuie considerate ca minime.

Ca urmare a studiilor interprinse, H u l p o i (1943) propune utilizarea, pe cît posibil, a gunoiului de grajd proaspăt. Rezultatele de producţie obţinute de autor, verificate într-o experienţă de mai mulţi ani pe un cernoziom ciocolatiu pogradat (C o c u l e s c u şi colab., 1966) arată că gunoiul de grajd proaspăt dă aceleaşi rezultate de producţie ca şi cel fermentat după metoda tradiţională. Superioritatea gunoiului proaspăt reiese dacă se are în vedere faptul că în cursul fermentării pierzîndu-se 50% din acesta, utilizarea în stare proaspătă asigură fertilizarea unor suprafeţe de două ori şi chiar mai mari şi, în fapt, sporuri corespunzătoare de producţie. Limita sistemului se leagă de faptul că gunoiul de grajd poate fi administrat în stare proaspătă un număr limitat de zile. În restul timpului el trebuie fermentat şi păstrat în condiţii optime. În folosirea gunoiului proaspăt trebuie, de ase-

menea, acordată o atenție continuă problemei contaminării acestuia cu microorganisme patogene de la animalele producătoare.

Folosirea gunoiului de grajd în stare proaspătă este considerată de majoritatea autorilor ca o tehnică care are drept urmare stimularea în mai mare măsură a activității microbiene. Într-adevăr, dependența cantitativă și calitativă a organismelor dintr-o biocenoză, de cantitatea de energie disponibilă, este o idee general valabilă în ecologie. În acest sens, biocenoza ca atare este privită de ecologia modernă ca o unitate de transformare a energiei. Deci este evident că materialele mai bogate în energie (celuloze și diferite alte hidrocarbonate), care există din abundență în gunoiul proaspăt, au o acțiune stimulatoare mai puternică decît materiale cu un grad mai avansat de humificare, ce domină în gunoiul fermentat. Efectul stimulator, este cu atît mai redus cu cît substanța humică produsă este mai stabilă la atacul microbian.

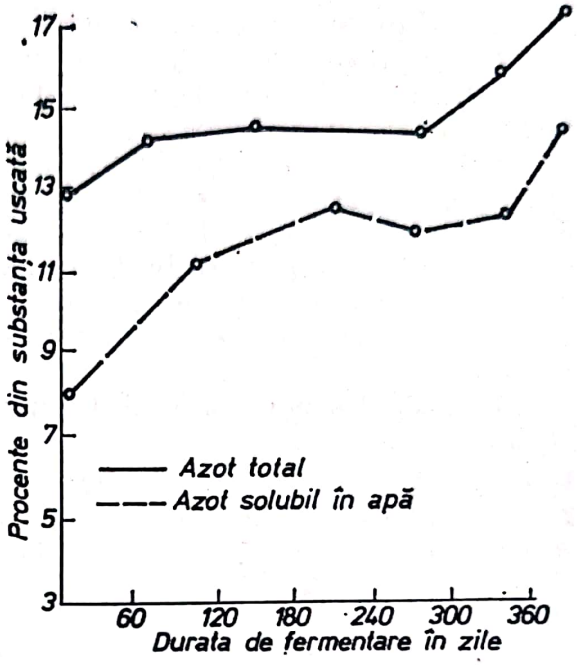


Fig. 40. Evoluția N_t și N solubil din gunoiul de grajd în cursul fermentării (după Hulpoi și Claudian, 1945)

1.1.2. Implicațiile biologice ale fertilizării cu gunoi de grajd

Efectul favorabil al gunoiului de grajd asupra activității biologice a solului a fost pus în evidență cu mai mult de o sută de ani în urmă, de marele fiziolog Boussingualt, care, împreună cu Lewy, au arătat că prin introducerea sa în sol, este stimulată activitatea respiratorie a acestuia. Ei au demonstrat totodată netemeinicia afirmațiilor lui Liebing, după care gunoiul ar acționa favorabil asupra vegetației numai datorită conținutului său în elemente nutritive. Datele obținute de Boussingault și Lewy au fost confirmate de cercetările moderne (Galstian, 1961; Tamm și Kryzsch, 1964; Steinbrenner, 1972). Fehér (1954), a apreciat că 1q de gunoi de grajd fermentat (substanță uscată) conține 15—20 kg substanță bacteriană și fungică vie, ceea ce reprezintă o cantitate mai mare decît cea care se găsește în mod natural în stratul arabil al unui sol fertil. Bogăția gunoiului în substanțe energetice și aportul său de microorganisme, explică pe deplin stimularea activității respiratorii a solului. Relația dintre intensitatea respirației și creșterea numărului de bacterii după introducerea gunoiului de grajd în sol, a fost stabilită de Pathar (1954) și Rawald (1970).

Rolul gunoiului de grajd nu se limitează numai la aportul de microorganisme. Datorită conţinutului în diferite substanţe, acesta contribuie la înmulţirea microorganismelor specifice solului şi la intensificarea activităţii lor.

Influenţa favorabilă, imediată, a gunoiului de grajd fermentat asupra micropopulaţiei solului se datoreşte, în primul rînd, conţinutului în forme de humus uşor asimilabil. Acestea reprezintă 2/3 din cantitatea descompusă a gunoiului. Humusul stabil formează 1/3 din această cantitate şi contribuie pe de o parte la menţinerea rezervei trofice şi energetice a solului, iar pe de altă parte la menţinerea şi ameliorarea stabilităţii agregatelor din sol.

În cadrul experienţelor de lungă durată de la Hoosfielder, s-a constatat că la varianta îngrăşată, timp de 20 de ani cu gunoi de grajd, influenţa acestuia asupra numărului de microorganisme din sol s-a manifestat favorabil, chiar după 60 de ani (B ö h m e, 1930). Rezultate similare au fost înregistrate şi la Staţiunea experimentală de la Solikamsk (M i s u s t i n şi P r o k o ş e v, 1949). S-a observat că gunoiul de grajd aplicat unui sol timp de 10 ani, în doze anuale de 30 t/ha, a determinat dublarea numărului de bacterii în comparaţie cu solul martor.

În România, la experienţele executate de L u n g u şi colab. (1961) pe un sol brun-roşcat de pădure, cu conţinut scăzut de humus (2,25%) gunoiul de grajd a determinat o creştere cu 57% a numărului total de microorganisme în stratul arabil, comparativ cu parcelele nefertilizate. Pe cernoziomul de la I.C.C.P.T.-Fundulea, rezultatele obţinute de E l i a d e şi G h i n e a (1967), au confirmat influenţa favorabilă a gunoiului de grajd. Acelaşi lucru l-au semnalat şi Z a h a n şi colab. (1971) pe un sol brun de pădure mediu podzolit oligobazic (tab. 23).

Datele din tabel permit să se observe că numărul total al bacteriilor creşte aproape la dublu în perioada imediată după îngroparea sub brazdă a gunoiului de grajd. Numărul sporilor bacterieni este mai mare în valoare absolută, deoarece gunoiul însuşi aduce o cantitate mare de spori ; dar numărul lor relativ, comparativ cu solul nefertilizat, este mai mic, datorită faptului că prin condiţiile trofice, create de introducerea gunoiului

Tabelul 23

Variaţiile cantitative ale florei bacteriene sub influenţa fertilizării (după Z a h a n şi colab., 1971)

Momentul recoltării probei de sol	Agrofond	Număr de bacterii heterotrofe (milioane la g sol)		
		Total bacterii	Număr de spori	% spori
Toamna 1965	Neîngrăşat	11,0	4,5	40,9
	$N_{64}P_{48}$	14,0	3,3	23,6
	Gunoi + NP	19,0	5,6	29,5
Primăvara 1966	Neîngrăşat	3,0	0,9	27,2
	$N_{64}P_{48}$	1,9	0,5	26,3
	Gunoi + NP	3,3	0,4	12,1

de grajd, creșterea numărului de forme vegetative a fost mai mare. Un aspect asemănător, dar mai puternic diferențiat, se observă în primăvară, cînd condițiile de temperatură și umiditate au fost mai favorabile.

Analiza bacteriilor fixatoare de azot și oligonitrofile a arătat că acestea sînt practic absente în solul martor. În solul fertilizat cu gunoi de grajd au fost puse în evidență celule de *Azotobacter chroococcum*, *Azotomonas*, *Agrobacterium radiobacter* și mai frecvent *Clostridium pasteurianum*, care probabil provin din gunoiul de grajd.

Deși numărul bacteriilor celulolitice a fost foarte mic, diferențierea lui, funcție de nivelul de îngrășare, sugerează că fertilizarea cu gunoi de grajd pe aceste soluri acide ar putea constitui una din măsurile de mărire a activității de descompunere a resturilor vegetale.

Dimpotrivă, pe solul rezultat după desecarea lacului Iezer (Călărași) gunoiul de grajd nu a provocat decît o foarte slabă stimulare a numărului total de microorganisme, aceasta datorîndu-se gradului mai mare de aprovizionare naturală a acestui sol cu substanțe organice ușor mineralizabile (Hulpoi și colab., 1967).

Actinomicetele, care, în condițiile platformei de fermentare a gunoiului, găsesc condiții bune de dezvoltare, ajunse în sol odată cu acesta se pot înmulți numai dacă condițiile de pH ale solului le sînt favorabile (Ruschmann, 1941; Küster, 1950; Aleksandrova, 1953; Flaig și Schmidt, 1957).

Prin administrarea repetată mai mulți ani a gunoiului de grajd Müller (1962) a constatat că numărul actinomicetelor a crescut cu 13—18% față de varianta neîngrășată.

Pe un sol de tip cernoziom moderat levigat, Eliade și colab. (1967) au arătat că îngrășarea cu gunoi de grajd proaspăt nu modifică numărul de actionomicete din sol.

Cercetările amănunțite, efectuate de Lemmermann și colab., (1909), Waksman (1927) și Jensen (1936) au scos în evidență faptul că gunoiul de grajd are o acțiune stimulatoare asupra florii fungice. Sînt stimulate cu precădere ciupercile din familia *Mucoracee* și din genul *Penicillium*. În solul îngrășat multă vreme cu gunoi de grajd se adaptează specii caracteristice (*Aspergillus nidulans*, *Penicillium vermiculatum*, *Pythium spinosum*, *Absida glauca*, *Aspergillus restrictus*). Totodată sînt inhibate speciile din familia *Dematiaceae* (Guillemat și Montegut, 1956). Cercetări mai recente, întreprinse de Dransfield și Mc. Donald (1967), au arătat că *Aspergillus nidulans* și *Rhizoctonia solani* sînt specii de ciuperci caracteristice solurilor îngrășate cu gunoi de grajd.

Aplicarea gunoiului de grajd are drept consecință nu numai creșterea numărului de microorganisme din sol, dar și intensificarea majorității proceselor determinate de acestea. Astfel, de multă vreme a fost semnalată intensificarea unor procese microbiene ca amonificarea și nitrificarea (Rangaswami și Sundasiram, 1964; Todorova, 1966 etc).

Pe solurile cernoziomice, îngrășarea cu gunoi de grajd a mărit evident capacitatea de nitrificare (Eliade, 1966).

Gunoiul de grajd încorporat în sol, influențează, de asemenea, favorabil înmulțirea faunei (Heald și Burton, 1968). Skinner și

colab. (1952) menţionează însă că această influenţă se produce în mod indirect. Ingrăşămîntul determină proliferarea abundentă a microflorei solului, care serveşte ca hrană reprezentanţilor faunei.

Singh (1949) a găsit într-un sol fertilizat cu gunoi, 72 mii de protozoare la un gram de sol. În solul nefertilizat, numărul protozoarelor a fost de numai 17 mii.

Herbke şi colab. (1962) au arătat că solul fertilizat cu gunoi de grajd conţine mai multe miriapode, colembole şi rîme. În experienţele întreprinse de Primavesi şi Covolo (1968), gunoiul a stimulat înmulţirea în sol a himenopterelor, arahnidelor şi chilopodelor. În general, animalele din sol, care au aparat bucal capabil să fărîmiţeze resturile vegetale ajunse în sol, aduc o contribuţie însemnată la descompunerea acestora. Prin mărunţirea resturilor vegetale se înlesneşte atacul enzimelor asupra unor suprafeţe mai mari de materie organică, ceea ce favorizează mineralizarea sau humificarea ei. Astfel , în tubul digestiv al rîmelor se dezvoltă o puternică microfloră celulolitică ce acţionează asupra celulozei din resturile vegetale, eliberînd zaharuri simple asimilabile.

Stimulînd reprezentanţii microflorei şi microfaunei care au rol în humificare, gunoiul de grajd reprezintă un mijloc eficient de mărire a rezervei de humus a solului. După experienţele lui Ansorge (1966) îngrăşarea cu gunoi de grajd a ridicat conţinutul de humus al solului cu 1—2%. Încorporarea în sol a gunoiului de grajd păios, bogat în material energetic dar sărac în azot, poate duce la deprecierea cantitativă şi calitativă a humusului. Microorganismele, folosind energia din gunoi, descompun humusul pentru a-şi suplini nevoile în azot. În acest caz adaosul de azot mineral grăbeşte humificarea gunoiului şi protejează humusul de descompunere (Jelinek şi Ambrozova, 1967).

Gunoiul de grajd are un rol deosebit şi în regimul de fosfor al solului. Kudzina şi Gubenko (1970) au remarcat creşterea cantităţii de fosfor în solurile îngrăşate cu gunoi. Creşte în primul rînd cantitatea de fosfor din diferitele fracţii organice.

În general, se consideră că îngrăşarea cu gunoi de grajd stimulează şi microflora din rizosfera plantelor agricole. Numeroase date (Hulpoi, 1936; Clark şi Thom, 1939; Katznelson şi Richardson, 1943; Timonin, 1940) au descris efectul direct al gunoiului asupra acestor microorganisme. Pe de altă parte, stimularea plantelor prin acest îngrăşămînt, provocînd creşterea cantităţii de secreţii radicelare eliberate în sol, ca şi dezvoltarea mai puternică a sistemului radicular, are drept urmare şi stimularea indirectă a microflorei rizosferice. Samţevici şi Borisova (1961) au găsit în rizosfera plantelor îngrăşate cu gunoi, de 18 ori mai multe bacterii. Ştefanic şi Jarnea (1965) au descris diferenţieri şi în compoziţia taxonomică a bacteriilor din rizosfera plantelor din parcele fertilizate cu gunoi de grajd. În astfel de situaţii se dezvoltă intens unele specii microbiene ca : *Pseudomonas ovalis*, *Agrobacterium radiobacter*, *Bacterium denitrificans*, *Bacillus cereus* etc.

Gunoiul de grajd stimulează, de asemenea, activitatea enzimatică a solului. Prin conţinutul ridicat de uree, gunoiul favorizează producerea ureazei (Galstian, 1961; Vavulo şi colab., 1968). Este stimulată, de asemenea, activitatea proteazică a solului (Gheller şi

Dobrotvorska, 1960; Dubovenko, 1964) activitatea invertazei (Galstian, 1961; Roșa și colab, 1970), activitatea catalazei (Karpova, 1966). Rawald -1970) găsește că gunoiul intensifică, de asemenea, activitatea celulazei și polifenoloxidazei, enzime implicate în sinteza humusului.

Activitatea microbiană sporită în solurile îngrășate cu gunoi de grajd are, printre altele, drept consecință, sporirea conținutului solului în aminoacizi și vitamine, fapt asupra căruia au atras atenția în primul rînd Smith și Starkey. După observațiile lui Szegy (1967), în solul îngrășat cu gunoi de grajd, crește cantitatea de acid nicotinic, piridoxină și biotină. Cantitatea de vitamine sintetizată este direct proporțională cu viteza mineralizării substanței organice din gunoi. Berșova (1967) atrage atenția asupra faptului că triptofanul, în calitatea sa de precursor al heteroauxinei, activează considerabil producerea acesteia în sol. Se știe că în gunoi și în composturi, triptofanul se produce în cantități apreciabile. Ulterior el este în parte transformat în heteroauxină, ceea ce explică parțial efectul favorabil al gunoiului de grajd asupra plantelor.

1.2. URINA ȘI MUSTUL DE BĂLEGAR

Urina proaspătă se caracterizează printr-un conținut ridicat în azot (1,0 — 1,5 %) și potasiu (1,5—2,0 % K_2O) și conținut scăzut în fosfor (0,05—0,1 % P_2O_5).

Azotul din urină se amonifică rapid în condiții de aerație satisfăcătoare, ceea ce poate antrena pierderi mari sub formă de amoniac. Pentru preîntîmpinarea lor, se recomandă colectarea urinei într-o groapă acoperită și izolarea ei de aer printr-un strat de ulei rezidual. În același scop s-a propus folosirea formaldehidei (Blanck și Giesecke, 1923; von Tseretheli 1938).

Mustul de bălegar este un amestec de excremente, urină și apă. Acest îngrășămînt este important în regiunile în care există puțin așternut. Tendința de economie de muncă a generat stabulația fără paie, ceea ce face ca acest tip de îngrășămînt să capete o importanță tot mai mare.

Mustul de bălegar stimulează activitatea biologică a solului pentru o perioadă scurtă de timp (Meyer și Schaeffer, 1954; Roschenthaler și Poschenrieder, 1958), datorită ușurinței cu care este transformat și asimilat de microflora solului.

1.3. COMPOSTURI

Composturile se pot obține prin fermentarea oricăror resturi organice care prisosesc în gospodărie. De aceea, materialul pentru producerea composturilor este de obicei foarte heterogen (paie, vreji de cartofi, pleavă, resturi de in și cînepă, buruieni, frunze, gunoi menajer, resturile de la abatoare, de la vinificație etc.). Pentru compostare, toate acestea trebuie mărunțite, amestecate cu gunoi de grajd și fermentate în platforme. Prima fază a compostării durează 3—4 luni. Apoi platforma se reface, fermentația microbiană reîncepe. Procesul durează 1,5 — 2 ani timp în care se atinge gradul de humificare dorit.

Scanned with OKEN Scanner

Fermentarea composturilor are loc în moduri diferite datorită heterogenităţii materialului iniţial. Aceasta determină populaţii microbiene diferite în cursul fermentării. Pentru a obţine rezultatele dorite trebuie aplicat un tratament diferenţiat în funcţie de materialul de compostat. Indiferent însă de particularităţi, compostarea trebuie să se desfăşoare predominant aerob.

Conţinutul compostului în materie organică variază între 10—50 %. El reprezintă un excelent mijloc de conservare a structurii solului şi a unui conţinut de microelemente favorabil plantelor (P a r v e s şi M c K e n z i e, 1973). Compostul administrat solului stimulează în special bacteriile celulolitice, bacteriile nitrificatoare şi fixatoarii de azot anaerobi. Composturile pot fi inoculate cu ciuperci din genul *Trichoderma*, care se dezvoltă foarte bine dacă compostului i se adaugă şi gunoi de grajd. Pe această cale se poate combate fuzarioza şi antracnoza inului, rîia cartofului, putregaiul sfeclei, putregaiul rădăcinilor cerealelor (F e d o r i n c i k, 1962).

1.4. PAIELE ŞI ALTE RESTURI VEGETALE

Fertilizarea cu paie este de mare importanţă pentru agricultura actuală din Europa şi America de Nord, regiuni în care nu se poate asigura fertilizarea cu gunoi de grajd a tuturor suprafeţelor. În acest caz, materialul energetic necesar solului, trebuie adăugat sub formă de paie. Paiele nu pot fi încorporate singure în sol, deoarece în prezenţa unei cantităţi mari de material energetic, microflora se dezvoltă intens, imobilizînd o parte din azotul mineral din sol. De aceea în cazul încorporării a 5 t/ha paie trebuie dat în plus cca. 50 kg azotat de amoniu faţă de norma obişnuită de îngrăşare, pentru ca plantele să nu sufere de carenţă de azot.

În solurile foarte sărace în fosfor asimilabil, la care raportul între carbon şi fosfor asimilabil depăşeşte 200 : 1 poate avea loc în cazul încorporării paielor şi o blocare a fosforului. Pe aceste soluri trebuie administrat şi fosfor în plus faţă de norma uzuală. Uneori, în cazul aprovizionării satisfăcătoare cu azot şi fosfor, poate avea loc blocarea sulfului. S t e w a r d şi colab. (1963) au calculat că raportul optim între carbon şi sulf este de 600 : 1 pentru descompunerea glucozei şi 300 : 1 pentru descompunerea celulozei. De aceea în solurile foarte sărace în sulf, trebuie adăugat şi

Influenţa resturilor

	Numărul total microorganisme (milioane g sol)				
Zile	80	90	210	360	30
Sol netratat	18,6	21,0	15,4	33,0	2,2
Sol+10 t/ha coceni	59,3	27,1	12,3	30,1	1,9
Sol+10 t/ha resturi soia	55,9	28,3	19,8	31,1	1,7
Sol+10 t la ha paie	25,3	20,4	20,5	24,7	1,6

1 kg la hectar din acest element. Adaosul de material energetic în sol reduce și accesibilitatea zincului pentru plante (Armeanu și colab., 1971). Autorii consideră că materialul energetic favorizează condensarea ortofosfaților din sol, pînă la pirofosfați și alți polifosfați care au posibilitatea de a complexa și precipita cationii polivalenți.

Pentru solurile fertile, considerațiile privind blocarea fosforului și sulfului au de obicei un aspect pur teoretic. Dimpotrivă, blocarea azotului de către paie este un fapt de mare importanță în toate cazurile. Este bine ca pe terenurile fertilizate cu paie să se cultive leguminoase, care cu ajutorul fixatorilor de azot simbiotici echilibrează raportul C:N și chiar îl îmbunătățesc.

Paiele stimulează în măsură mai mare activitatea globală a microflorei solului, decît gunoiul, fapt verificat prin măsurători respirometrice de către Wollny (1886), Lemmerman și Weissmann (1924), Scheffer (1954), Ishizawa și colab. (1958). După datele acestor autori, la cantități echivalente de carbon, paiele produc cu 46 % mai mult bioxid de carbon decît gunoiul fermentat. Diferența este desigur considerabil mai mică dacă se are în vedere gunoiul proaspăt. A fost descrisă intensificarea respirației solului și în cazul încorporării asociate a paielor cu îngrășăminte minerale azotate (Starkey, 1924, Jansson, 1958; Chandra și Bollen, 1960). S-a constatat în astfel de cazuri chiar o prelungire a acțiunii stimulatoare care se menține cel puțin 180 zile (Gooding și Mc. Calla, 1945; Newton, 1956). Dacă însă amestecul paie-îngrășăminte minerale cu azot, ce urmează a fi încorporat, este în prealabil supus unei compostări de cel puțin 30 zile, stimularea respirației solului este cu mult diminuată. Astfel de composturi se comportă, după cum a arătat Engel (1931), ca orice material care avînd un grad înaintat de humificare prezintă valori scăzute ale raportului C/N și, ca urmare, o bază energetică insuficientă unor schimburi metabolice intense.

Avînd în vedere că adaosul de resturi vegetale suplimentează baza energetică a solului, care după cum s-a mai arătat se găsește sub limita cerințelor metabolice ale microorganismelor, are loc în astfel de condiții proliferarea accentuată a majorității grupelor de microbi. Într-un studiu efectuat pe un cernoziom mediu levigat, la care s-au administrat paie și alte resturi vegetale uscate în proporție de 10 t/ha, Eliade și colaboratorii (1973) au obținut următoarele rezultate (tab. 24).

Tabelul 24

vegetale asupra principalelor grupe de microorganisme din sol (după Eliade și colab., 1973)

Actinomicete (milioane g sol)			Ciuperci (mii la g sol)				Microorganisme celulolitice (mii la g sol)	
90	210	360	30	90	210	360	30	360
5,3	2,4	3,4	14,0	17,0	14,0	13,6	13,2	17,0
6,1	5,1	6,0	48,0	28,0	25,0	22,6	42,2	25,5
5,9	5,1	4,4	37,0	31,2	27,0	23,0	38,7	22,0
6,5	5,6	5,0	25,4	48,0	28,8	26,6	34,0	27,8

Numărul total de microorganisme creşte mult în primele 30 zile de la compostare, după care se remarcă o scădere a valorilor la nivelul solului netratat. La actinomicete, efectul paielor se face simţit mult mai tîrziu, aproximativ după 200 zile de la aplicarea resturilor. Microorganismele celulolitice, cum este şi normal, se dezvoltă foarte mult în solurile tratate. Analizele au demonstrat că începînd chiar după cîteva zile de la aplicarea tratamentului şi pe parcursul a 360 zile cît s-a urmărit, numărul acestui grup a prezentat valori de regulă cu peste 100% faţă de cele înregistrate în solul netratat cu resturi vegetale.

Dintre grupele de microorganisme, ciupercile sînt îndeosebi stimulate prin îngrăşare cu paie. Una dintre primele experienţe intreprinse în această direcţie de către Waksman şi Starkey (1924) au arătat că adaosul de paie în sol, a determinat creşterea numărului ciupercilor de la 50.000 la 125.000/g sol, iar în experenţele citate mai sus, Eliade şi colab., au pus în evidenţă creşteri de peste două ori a numărului de ciuperci. Sînt stimulate în special unele genuri : *Alternaria*, *Fusarium* etc. (Neelaktanan şi colab., 1974). În legătură cu stimularea ciupercilor se impune a fi menţionat însă un aspect cu implicaţii practice deosebite pentru culturile agricole. S-a constatat că în anumite condiţii climatice (veri foarte ploioase şi reci) administrarea de paie determină acumularea în sol a unor substanţe fitotoxice foarte active asupra plantelor. Astfel de fenomene au fost descrise de Mc. Calla şi Haskins (1964) la cultura de porumb, (Kimber (1973) — la cea de grîu, de către Mişustin şi Erofeev (1966) în livezile de portocali şi mai ales în culturile plantelor leguminoase, unde prezenţa acestor substanţe împiedică nodularea plantelor (Holland, 1966). S-a demonstrat că aceste substanţe sînt produse în cursul descompunerii de unele ciuperci din genurile : *Glyocladium*, *Penicillium* ; *Aspergillus*, *Fusarium*, *Trichoderma* şi *Alternaria* (Mirsnik, 1957).

Izolarea acestor substanţe din sol a dus la precizarea că ele sînt produşi de descompunere ai resturilor vegetale în condiţii de anaerobioză, reprezentaţi în special de acizi graşi volatili : acidul ferulic, acidul n-cumaric, acidul vanilinic şi acidul oxibenzoic. Asigurarea unor condiţii optime de aeraţie, prin executarea unor lucrări ale solului corespunzătoare, pot diminua sau înlătura total astfel de fenomene nedorite.

Cu privire la proliferarea ciupercilor în condiţiile administrării paielor mai trebuie menţionat şi rolul acestor microorganisme în îmbunătăţirea unor condiţii fizice ale solului şi în primul rînd a structurii lui. S-a observat de mult timp că paiele ameliorează structura solului, mărindu-i în acelaşi timp capacitatea pentru apă. După cum arată Monnier (1965) hifele ciupercilor acoperă cu o reţea fină agregatele de sol mărindu-le rezistenţa. Din acest punct de vedere administrarea paielor apare ca necesară mai ales în solurile supuse eroziunii.

Asupra diferitelor procese biologice din sol, paiele acţionează în relaţie directă cu cerinţele metabolice ale microorganismelor ce compun grupul. Activitatea celulolitică a solului este evident în primul rînd stimulată, ca urmare a faptului că la dispoziţia acestor microorganisme se pune o sursă energetică suplimentară. Nu trebuie omis însă faptul că încorporarea în sol acţionează şi indirect asupra procesului, prin stimula-

Scanned with OKEN Scanner

rea capacității de fixare a azotului atmosferic în sol. Se știe că prin descompunerea paielor de către flora celulolitică iau naștere produși intermediari cu moleculă mai puțin complexă, singurii în măsură să asigure baza energetică a acestui proces. Prin cantitățile mărite de azot introdus astfel în sol se asigură microorganismelor celulolitice posibilitatea de a-și intensifica cu mult capacitatea de celuloliză.

În măsură mai mică, dar totuși concludentă este și stimularea procesului de amonificare (M o u r e a u x , 1956). Intensificarea acestui proces are, se pare la bază, suplimentarea cu azot organic a solului, rezultat în cursul procesului de fixare.

Dificil de apreciat este dacă, în cazul compostării solului cu paie sau cu alte resturi vegetale, capacitatea de nitrificare este sau nu influențată. Prin urmărirea valorilor obținute la determinările de azot nitric, în experiențe întreprinse de E l i a d e și colab. (1973), ar rezulta că în primele 60—70 de zile de la compostare are loc inhibarea acestui proces, ilustrată de valorile constant mai mici ale variantelor compostate comparativ cu varianta netratată (tab. 25). La îngrășarea cu resturi vegetale bogate în azot (provenite de la leguminoase) nitrificarea și amonificarea cresc puternic (V o i n o v a - R a i c o v a , 1972).

Este cunoscut faptul că, în cursul descompunerii resturilor vegetale, prin activitatea microorganismelor celulolitice, o cantitate însemnată de azot mineral este imobilizată în plasma lor. Este foarte probabil deci ca nitrificarea să se desfășoare la nivelul intensității normale, dar să fie mascată de dispariția simultană a produsului nou format. Indiferent însă de amploarea intensității lui, culturile agricole în astfel de condiții reclamă prezența unor cantități de îngrășăminte minerale.

Descompunerea paielor în sol este un proces foarte complex la care participă numeroase organisme animale și vegetale. Ea este începută de microfaună (rîme, enchitreide, colembole și acarieni) care mărunțește substanța organică și o amestecă cu solul (S a u e r l a n d t și G r a f f , 1955; B a r b i e r , 1962). În condițiile unei umidități și temperaturi optime, pe suprafața acestor fragmente se instalează o floră fungică care cu timpul distruge cuticula externă și pătrunde în interior. Din acest

Tabelul 25

Dinamica $N-NO_3$ (ppm) în solul tratat cu diferite resturi vegetale uscate (după E l i a d e și colab., 1973)

Felul tratamentului	Zile									
	0	2	5	7	15	28	52	72	100	178
Sol netratat	3,6	2,5	5,8	15,0	10,4	6,2	4,4	8,3	5,6	5,9
Sol+10 t/ha coceni	3,6	0,9	1,0	2,0	1,2	1,1	3,6	9,2	5,2	5,2
Sol+10 t/ha resturi soia	3,6	1,0	1,0	2,1	1,3	0,8	3,6	8,3	2,6	5,8
Sol+10 t/ha paie	3,6	1,5	1,3	1,8	1,2	0,8	3,6	5,9	3,7	5,2

moment devine posibilă şi acţiunea bacteriilor, care, în funcţie de regimul de aeraţie, pot duce descompunerea, fie pînă la formarea unor compuşi intermediari, fie pînă la formarea produşilor finali.

1.4.1. *Factorii care condiţionează descompunerea paielor*

În descompunerea materialului vegetal intervin numeroşi factori, dintre care conţinutul în azot este cel mai important (N o v a k , 1972).

În primul rînd, important este conţinutul în azot al materialului ce se descompune. S-a arătat astfel că la un conţinut de 1,78% azot, descompunerea cocenilor este mai bună, în timp ce la un conţinut de 1,27 %, azotul este un factor limitativ.

În al doilea rînd, conţinutul solului în azot dirijează în mare măsură intensitatea acestui proces. Într-un sol bine aprovizionat cu azot, în două zile este utilizat 16% din carbonul provenit din paie, în 10 zile, 36%, în 50 zile, 48 %, iar în 160 zile, 64 %. Sînt consumate în primul rînd substanţele solubile în apă. După cca. 37 zile, acestea sînt complet epuizate şi începe atacul hemicelulozelor şi celulozelor, atac ce se termină în 80 zile (V a n d e c a v e y e şi A l l e n , 1935).

Azotul influenţează descompunerea resturilor vegetale nu numai prin cantitatea sa, ci şi prin forma în care se găseşte în sol. S-a constatat că dacă microflora celulolitică are la dispoziţie atît azot amoniacal cît şi azot nitric, acesta din urmă este preferat (J a n s s o n şi colab. 1955).

Un alt factor care influenţează intensitatea procesului de descompunere a paielor îl reprezintă aeraţia. În solul cu 2,5—5% aeraţie, în 6 săptămîni este folosit 13,7% din carbonul paielor, în vreme ce la o aeraţie de 21% este folosit 86%. Din acest material, 83,2% serveşte la sinteza substanţei organice a solului (M a y a u d o n şi colab., 1974).

Un rol important îl joacă şi umiditatea solului al cărei optim pentru descompunerea paielor este de circa 32% (S i m o n - S y l v e s t r e , 1958).

Variaţia principalelor grupe de microorganisme sub acţiunea

Varianta	Număr total microorganisme (milioane g sol)				Zi
	30	90	210	360	30
Sol netratat	18,6	21,0	15,4	33,0	2,2
Sol+10 t/ha resturi porumb	66,3	57,4	17,2	37,1	24,3
Sol+ 10 t/ha resturi soia	69,4	58,0	23,3	38,5	5,5
Sol+10 t/ha resturi grîu	75,8	72,8	26,9	35,4	11,7

1.5. ÎNGRĂȘĂMÎNTUL VERDE

Deși cu aplicabilitate restrînsă, dar mai ales ocazională în timp, tratamentul solului cu resturi vegetale verzi reprezintă una din măsurile cu mare valoare ameliorativă a solurilor.

Prin conținutul bogat în material energetic și elemente nutritive, resturile vegetale verzi reprezintă un mijloc important de stimulare a microflorei solului. În plus, trebuie amintit și rolul deosebit al îngrășămîntului verde în îmbunătățirea unor însușiri fizice ca: porozitatea și structura solului, elemente de bază în ansamblul factorilor unui mediu biotic.

O ilustrare a celor menționate mai sus este oferită de rezultatele obținute în anul 1972 în experiențe efectuate la stațiunea Fundulea pe un cernoziom moderat levigat (E l i a d e și colab. 1972). Din tabelul 26 se remarcă că sub acțiunea resturilor vegetale verzi de grîu, porumb și soia, toate grupele de microorganisme au fost stimulate, obținîndu-se valori cu mult superioare celor înregistrate în solul netratat și chiar față de cele obținute în variantele îngrășate cu resturi vegetale uscate. Acțiunea de stimulare este mai puternică în perioada imediat următoare aplicării tratamentului și oarecum se echilibrează cu cea determinată de resturile uscate, spre sfîrșitul ciclului de experimentare.

Resturile vegetale verzi reprezintă un material cu rezistență mai scăzută față de atacul microbian, ceea ce face ca începînd chiar din primele zile de la aplicarea tratamentului, el să fie descompus cu ușurință și să pună în libertate elementele nutritive acumulate. Datele privind dinamica azotului nitric în sol, expuse în tabelul 27, arată că începînd cu a 15-a zi de la încorporare, se pun în libertate cantități mari și apoi foarte mari din acest element. Apar în plus compuși ai fosforului, potasiului, sulfului și unele microelemente.

Conținutul bogat în elemente nutritive și posibilitatea eliberării lor ușoare din celula vegetală, au generat convingerea că aceste îngrășăminte provoacă descompunerea accelerată a humusului în sol. Acest proces ar decurge cu atît mai intens cu cît raportul C/N al restului

Tabelul 26

resturilor vegetale verzi (după E l i a d e și colab., 1973)

Actinomicete (milioane g sol)			Ciuperci (mii la g sol)				Microorganisme celulolitice (mii la g sol)	
le								
90	210	360	30	90	210	360	30	360
5,3	2,4	3,4	14,0	17,0	14,0	13,6	13,3	17,8
9,1	7,2	5,0	60,0	37,4	26,0	21,4	44,9	22,5
7,8	5,2	5,4	27,0	30,2	24,0	22,4	48,0	18,8
9,6	6,4	4,3	63,0	31,8	19,0	20,6	48,0	22,0

Tabelul 27

Dinamica $N-NO_3$ în solul tratat cu diferite resturi vegetale verzi (după Eliade şi colab., 1973)

Varianta	Zile										
	0	2	5	7	15	28	52	72	100	178	228
Sol netratat	3,6	2,5	5,8	15,0	10,4	6,2	4,4	8,3	5,6	5,0	10,0
Sol+10 t/ha resturi porumb	3,6	1,2	1,0	1,5	9,8	10,0	14,4	15,8	120,1	84,2	230,5
Sol + 10 t/ha resturi soia	3,6	1,2	1,5	1,5	10,0	29,0	39,5	200,8	197,3	146,3	367,1
Sol+10 t/ha resturi grîu	3,6	1,1	1,1	5,2	27,3	56,3	59,3	166,2	150,4	253,6	189,1

vegetal verde este mai scăzut (Müller, 1968). Variaţia acestui raport depinde evident de foarte mulţi factori, dintre care principali sînt specia şi vîrsta plantei. Cazul particular al „efectului de activare" despre care s-a discutat în primul capitol, este consecinţa respectării acestor doi factori. Numai prin folosirea unor cantităţi mici de resturi vegetale, de la specii cu raport C/N scăzut şi în stadii tinere, există posibilitatea declanşării unei descompuneri active a materialului energetic propriu solului.

În condiţiile unei agrotehnici corespunzătoare, la 25—30 zile de la încorporarea îngrăşămîntului verde are loc o humificare puternică (Lastig, 1966; Nemilov şi Havkina, 1968).

În experienţele amintite mai sus — efectuate de Eliade şi colab. (1972) la staţiunea Fundulea — autorii au pus în evidenţă creşterea conţinutului de carbon solubil al solului în proporţie mare pentru resturile verzi de porumb şi grîu şi mai mici pentru soia (tab. 28). Analiza frac-

Tabelul 28

Variaţia conţinutului în Ct şi a fracţiilor de C după 360 zile în solul tratat cu diferite resturi vegetale verzi (după Eliade şi colab., 1973)

Varianta	C total (%)		C solubil (%)		Acizi humici (%)		Acizi fulvici (%)	
	Zile							
	0	360	0	360	0	360	0	360
Sol netratat	1,32	1,33	0,98	0,93	0,57	0,55	0,41	0,38
Sol+10 t/ha resturi porumb	1,54	1,45	1,00	1,08	0,47	0,58	0,53	0,50
Sol+10 t/ha resturi soia	1,52	1,40	0,98	1,03	0,57	0,70	0,41	0,33
Sol+10 t/ha resturi grîu	1,54	—	1,03	—	1,00	—	—	—

Scanned with OKEN Scanner

ționată a substanței organice a scos în evidență că această creștere are loc pe baza îmbogățirii solului în acizi humici, asociată cu o scădere de o mai mică amploare a proporției de acizi fulvici.

Rolul îngrășămintelor verzi în creșterea conținutului de substanțe humice a fost semnalat și pe solurile nisipoase, de către Bordas și Huguet (1949). Pe astfel de soluri, resturile vegetale verzi au adus în sol un plus de 0,264% carbon total, 0,100% azot total, determinînd la sfîrșitul ciclului experimental creșterea conținutului de humus din sol, de la 0,820 la 1,270%.

2. FERTILIZAREA MINERALĂ

2.1. FERTILIZAREA CU AZOT

Extinderea practicilor de fertilizare minerală face extrem de oportună examinarea și cunoașterea influenței pe care îngrășarea o exercită asupra micropopulației din sol. În legătură cu aceasta trebuie precizate unele probleme privitoare la nutriția minerală a plantelor. O vreme a dominat concepția după care îngrășămintele minerale încorporate în sol sînt consumate în primul rînd de microorganisme, plantele folosind în exclusivitate produșii de metabolism ai acestora. Evident că această concepție nu a putut rezista unor argumente furnizate de fiziologia vegetală și de știința solului. S-a stabilit astfel că plantele pot trăi și se pot dezvolta normal în soluții nutritive sterile, absorbind compușii minerali pe care-i au la dispoziție. Se știe, de asemenea, că îngrășămintele minerale acționează asupra plantelor nu numai prin conținutul lor în substanță activă, ci și prin forma sub care sînt administrate. Dacă substanța activă n-ar fi asimilată direct din îngrășămînt, ci după o prealabilă prelucrare de către microorganisme, acest aspect ar fi greu de explicat. În sfîrșit, pentru unele substanțe folosite ca îngrășămînt (cele cu potasiu) nu se cunosc produși organici rezultați din metabolismul microbian, care ulterior să poată fi asimilați de către plante.

Argumentele expuse mai sus nu pledează pentru o concepție exclusivistă, care să nege rolul microorganismelor în procesul nutriției minerale. Există, fără îndoială, posibilitatea ca plantele să absoarbă direct o parte din îngrășămintele minerale administrate, după cum este tot așa de posibil ca o mare parte a substanțelor asimilate să fie rezultatul activității microbiene.

Numeroase cercetări arată că între plante și microorganismele din sol există o mare concurență pentru asimilarea elementelor nutritive, îndeosebi a azotului. Acest fenomen se observă cu deosebită acuitate în cazul în care în sol se găsește o mică cantitate de azot nitric sau în situațiile în care, deși există o cantitate de azot corespunzătoare, solul primește un adaos de material organic energetic. Azotul anorganic din îngrășămînt rămîne puțin timp sub această formă, trecînd rapid în combinații organice, inaccesibile plantelor. Cercetările au arătat însă că cea mai mare parte a azotului imobilizat se găsește în fracții ale humusului ce pot fi ușor descompuse de microorganisme (Broadbent și Nakas-

Scanned with OKEN Scanner

h i m a , 1967 ; L e g g şi colab., 1971). De aceea cea mai mare parte a azotului din îngrăşămînt se remineralizează în scurt timp. Pe măsura producerii lui, datorită activităţii microbiene, este utilizat de către plantele superioare. Prin urmare, chiar şi în condiţiile unei fertilizări puternice cu azot, gradul de aprovizionare a plantelor cu acest element este în parte o funcţie a proceselor de humificare şi mineralizare de care sînt responsabile microorganismele. Un aspect de care trebuie însă să se ţină seama este acela că, pe măsură ce trece timpul de la încorporare, combinaţiile în care se găseşte azotul provenit din îngrăşăminte devin tot mai stabile (B r o a d b e n t , 1968).

Procesele de imobilizare amintite mai sus, demonstrează de ce utilizarea îngrăşămintelor de către plante este întotdeauna sub 100% şi totodată oferă o explicaţie pentru cauza efectului rezidual al acestor îngrăşăminte.

Existenţa celor două surse de azot mineral (din îngrăşămînt şi din substanţa organică a solului) pune însă problema preferinţelor pe care le are planta în absorbţia azotului mineral de provenienţă diferită. Experienţe întreprinse de L e g g şi colaboratorii (1965) care au folosit îngrăşăminte marcate cu ^{15}N au arătat că planta absoarbe iniţial numai azotul din îngrăşămînt, pentru ca în stadii mai avansate de dezvoltare să absoarbă îndeosebi azotul provenit din rezerva organică a solului. Efectul acestui fenomen pare paradoxal : deşi cantitatea totală de azot din plantă este în relaţie directă cu doza de îngrăşămînt, cea mai mare parte a azotului regăsit în plantă nu provine din îngrăşămînt, ci din rezerva de azot a solului. Astfel, A l e k s i C. (1968) experimentînd cu sulfat de amoniu, pe soluri de provenienţă diferită, a stabilit că indiferent de doza de azot, numai 13 —69% din azotul plantelor provine din îngrăşămînt. H e r a şi colab. (1968, 1972) au stabilit pentru plantele de grîu un procent de folosire a îngrăşămintelor de 18,6 —24,5% în boabe şi de 15,3 —22,0% în paie.

Absorbţia preferenţială a azotului mineral din rezerva solului de către plante presupune sau existenţa unui conţinut ridicat de azot nitric în sol, sau posibilitatea unor procese de nitrificare intense care să pună la dispoziţia plantelor acest produs. Cum în anumite condiţii de pe parcelele îngrăşate cantitatea de azot introdusă în sol, la care se adaugă cea produsă prin nitrificare la martor, se situează sub nivelul celei exportate, este probabil ca azotul mineral din îngrăşămînt să determine un efect de activare al azotului din sol. Lucrările lui B r o a d b e n t din 1965 confirmă posibilitatea unui astfel de efect de activare a azotului. Ulterior C h a b a n n e s şi B a r b i e r au arătat că introducerea în sol a dozei de 120 kg azot mineral, a determinat creşterea totală a conţinutului de azot nitric la 320 kg/ha.

Iată deci că introducerea azotului mineral în sol modifică circulaţia naturală a azotului, viteza proceselor de mineralizare şi humificare. Aceste schimbări sînt în legătură cu o serie de factori dintre care foarte importanţi sînt raportul C/N, cantitatea de materie organică, temperatura, umiditatea, activitatea microorganismelor.

Lipsa azotului din îngrăşăminte depreciază calitatea humusului (W o j c i k - W i t k o w i a k , 1972) şi face să scadă conţinutul aces-

Scanned with OKEN Scanner

tuia. O îngrășare moderată și echilibrată stimulează atît procesele de sinteză, cît și cele de mineralizare (Nehring și Wiesemüller, 1966; Tau și colab., 1972). Adaosul unor doze mari de îngrășăminte minerale cu azot micșorează însă efectul favorabil al paielor asupra structurii solului (Acton și colab., 1963) Aceeași situație o întîlnim în cazul îngrășării îndelungate cu îngrășăminte minerale. Astfel în Canada, după 50 ani de fertilizare continuă cu azotat de amoniu, rezerva de humus s-a înjumătățit, a scăzut cantitatea de humus ușor hidrolizabil și de acizi fulvici și a crescut procentul de acizi humici puternic polimerizați. În Uniunea Sovietică se menționează (Dospehov, 1967) că îngrășarea exclusiv minerală a solurilor dernopodzolice a redus rezerva de humus în 15—17 ani.

S-a semnalat de asemenea deprecierea structurii solurilor îngrășate exclusiv mineral, datorită activării descompunerii humusului (dell'Agnola și Ferrari, 1971; Oaner, 1972). Procesul de activare fiind de natură microbiană, este necesar să se cunoască reacția microorganismelor față de îngrășămintele cu azot mineral.

Efectul favorabil al îngrășămintelor cu azot mineral asupra capacității microorganismelor de a folosi noi surse de energie trebuie, în mod normal, să se reflecte în creșterea intensității respiratorii a microflorei. Cercetările mai vechi (Vandecaveye, 1932; Müller și Stappel, 1947) nu au putut pune în evidență acest fenomen. Recent însă acest lucru a fost posibil datorită perfecționărilor tehnice aduse în studiul acestui proces de către Stotzky și Norman (1961) și Maçura și Kunc (1965).

Dacă dozele moderate de azot stimulează activitatea respiratorie a microflorei, în schimb cercetătorii sînt de acord că dozele prea mari de azot mineral au efect inhibitor (Wollny, 1886; Lall și Mukereji, 1953; Ioshi și Ioshi, 1953; Allison și Cower, 1960). Acest fapt a fost dovedit pe soluri cu raport C : N mic (Bollen, 1941; Sundara Rao, 1953; Chandra și Bollen, 1960), sau pe soluri acide, unde și recolta plantelor agricole este influențată negativ de azotul mineral (Frerks și Puffe, 1960).

Guillemat și Montegut (1960) arată că îngrășarea cu azot a mărit cu 27% numărul ciupercilor în cazul în care acesta a fost asociat cu potasiu și cu 14% cînd a fost asociat cu fosfor. Eliade și Ghinea (1967) analizînd probe dintr-un sol de tip cernoziom moderat levigat, au constatat că numărul ciupercilor se găsește în relație directă cu doza de azot administrată, atît sub cultura de grîu cît și sub cea de porumb (tab. 29)

Îngrășarea cu azotat de amoniu, mărind concurența pentru sursele de energie, elimină din sol ciupercile din genul *Rhizoctonia* și *Humicola* (Davey și Papavizas, 1963). În schimb sînt stimulate ciupercile din genul *Penicillium* (mai ales *Penicillium lillacinum*), *Phoma* și *Stachybotrys* (Guillemat și Montegut, 1956). Prin complexare cu fosfor, îngrășămintele cu azot au stimulat în plus dezvoltarea ciupercilor : *Penicillium asperum*, *Fusarium bulbigenum*, *Mucor adventitius*, *Verticillium* sp., *Globisporium* sp., iar în solul în care pe lîngă azot și fosfor se adaugă și potasiu are loc creșterea numărului ciupercilor : *Cephalosporium*

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 29

Influența îngrășării minerale asupra numărului total de ciuperci (mii la g sol) într-un cernoziom mediu levigat (după Eliade și Ghinea 1967)

Agrofond	Cultura		
	porumb	grîu după porumb	grîu după grîu
Neîngrășat	120	100	70
$N_{32}P_{32}$	150	180	160
$N_{96}P_{96}$	132	130	120

sp., *Cephalosporium imperfecta*, *Gliomastix convoluta*, *Pyrenochaeta* sp., precum și specii din familia *Dematiaceae*. Berezova și Sorokina (1963) apreciază că dezvoltarea anumitor ciuperci în solurile îngrășate cu azot mineral favorizează acidifierea acestora prin producerea de acizi organici.

Îngrășarea cu azot mineral stimulează celuloliza (Todorova-Ivanova, 1969). Numărul acestor microorganisme a crescut cu 50% în variantele tratate cu azot mineral pe un sol brun mediu podzolit (Zăhan și colab. 1971).

Fertilizarea au azot influențează pozitiv (datorită dezvoltării mai bune a plantelor) numărul bacteriilor din rizosferă, care crește proporțional cu doza administrată (Rovira și Stern, 1961). Nu se remarcă însă diferențe în repartiția pe specii a bacteriilor din rizosferă.

Un aspect des cercetat a fost acela al producerii de vitamine în condițiile îngrășării solului cu azot mineral. Voznîakovskaia și Avrov (1968) și recent Epancinov (1971), au studiat procesul de sinteză a vitaminelor microbiene în rizosfera plantelor de fasole, în funcție de doza de azot și au stabilit relații strînse între cantitatea de vitamine produsă și mărimea recoltei.

Capacitatea de nitrificare a solului este influențată evident de îngrășarea minerală cu azot. Parker și Larson (1962) au stabilit creșterea nitrificării în funcție de doza de azot amoniacal administrată. În țara noastră, cercetările întreprinse pe un sol cernoziomic, au pus de asemenea în evidență relația foarte strînsă dintre capacitatea de nitrificare și doza de azot (tabelul 30). Experiențele au arătat că pentru aprecierea

Tabelul 30

Influența dozei de azot amoniacal (ppm) asupra capacității de nitrificare (ppm NO_3) și a randamentului valorificării azotului amoniacal (după Hulpoi și colab., 1970)

Doza N administrat	30	61	122	406	1016
Capacitatea de nitrificare	284	346	347	446	573
N nitric dozat/N amoniacal încorporat	2,10	1,28	0,78	0,24	0,13

Scanned with OKEN Scanner

valorificării azotului amoniacal în sol este de mare importanță raportul dintre azotul nitric (rezultat în urma nitrificării azotului amoniacal) și azotul amoniacal încorporat (A r d a k a n i și colab., 1974). Totodată se constată că în cazul aplicării dozelor moderate și chiar mari de azot amoniacal, valoarea acestui raport este supraunitară. Numai pentru dozele foarte mari, care depășesc de regulă pe cele utilizate în practica agricolă, valoarea raportului este subunitară. Aceste date sugerează că, în mod curent, îngrășarea minerală a solului nu compensează în întregime azotul nitrificat scos din sol de către plantă. Prin urmare, o parte din azot provine din mineralizarea (necompensată) a unei părți din humus. Aceste aspecte s-au mai discutat în capitolul I, cu care ocazie s-a arătat că numai pentru țări cu agricultură foarte intensivă, este rentabilă acoperirea prin îngrășare minerală a întregii cantități de azot extrasă cu recolta. În România în anul 1968 s-au administrat în medie 42 kg/ha azot și s-au scos cu recolta peste 100 kg/ha. A rezultat deci un deficit mediu de peste 58 kg/ha, a cărui recuperare, în lipsa unor cantități suficiente de îngrășăminte este posibilă numai prin măsuri agrotehnice care să stimuleze activitatea de fixare a azotului. Recuperarea întregii cantități de azot exportat, pe cale biologică, s-a dovedit, cel puțin în stadiul actual, o imposibilitate.

O deosebită importanță pentru valorificarea prin nitrificare a azotului amoniacal, o are gradul de tasare al solului. Relația foarte strînsă dintre acești doi factori a fost pusă în evidență de cercetările lui H u l p o i și colaboratorii (1970). Rezultatele obținute demonstrează (tab. 31) că solurile umede și excesiv tasate nu valorifică prin nitrificare nici jumătate din îngrășămîntul amoniacal aplicat. Pentru solurile cu greutăți volumetrice mai mici ca 1,57 g/cm³, intensitatea nitrificării crește foarte mult, înregistrîndu-se, în cazul aplicării dozelor practice de îngrășămînt, valori

Tabelul 31

Influența tasării solului la 26% umiditate asupra capacității de nitrificare (ppm NO_3) (după H u l p o i și colab., 1970)

Greutatea volumetrică (g/cm³)	Doza de NH_4 —N (ppm) încorporat				
	30	61	122	406	1016
1,15	287	372	392	611	716
1,30	254	363	473	677	672
1,46	199	385	479	664	656
1,57	232	280	348	589	581
1,67	47	117	179	308	276
	N nitric determinat/N amoniacal încorporat				
1,15	2,01	1,38	0,73	0,34	0,15
1,30	1,89	1,34	0,88	0,38	0,15
1,46	1,47	1,43	0,81	0,42	0,15
1,57	1,70	1,04	0,73	0,32	0,12
1,67	0,36	0,44	0,24	0,17	0,06

Scanned with OKEN Scanner

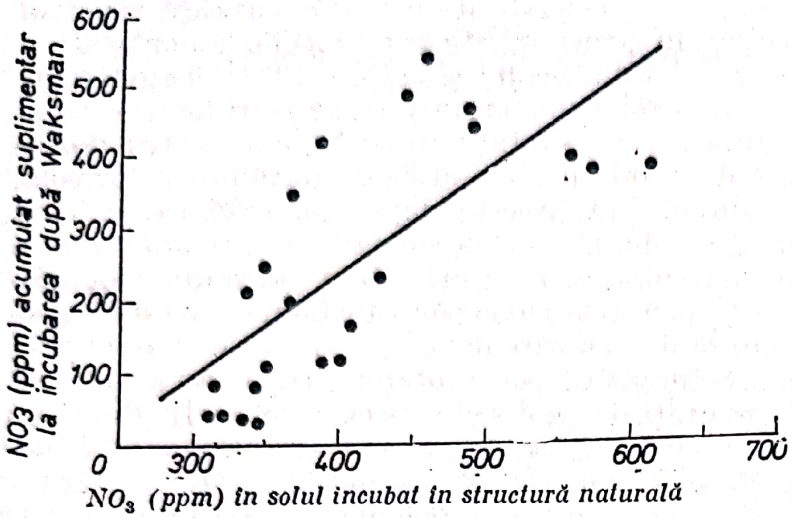


Fig. 41. Corelaţia între capacitatea de nitrificare a solului incubat în structură naturală şi capacitatea de nitrificare a solului incubat după metoda Waksman (după Hulpoi şi colab., 1970)

supraunitare ale raportului dintre azotul nitric dozat şi azotul amoniacal încorporat.

S-ar putea presupune că solul tasat, în care procesele de nitrificare decurg mai încet, protejează materialul nitrificabil şi, dacă se intervine ulterior cu o afînare, nitrificarea va fi mai puternică. În realitate lucrurile nu se întîmplă aşa. Prin modelarea acestei situaţii în condiţii de laborator, Hulpoi şi colaboratorii au scos în evidenţă faptul că azotul amoniacal nevalorificat din cauza tasării solului, nu poate fi valorificat ulterior, chiar dacă condiţiile de aeraţie se îmbunătăţesc (fig. 41). Aceste rezultate atestă importanţa decisivă pe care o are executarea lucrărilor de bază pentru reuşita unei culturi. Pregătirea patului germinativ, nu numai că nu-şi pierde importanţa, ci dimpotrivă şi-o sporeşte în cazul folosirii îngrăşămintelor. Fertilizarea minerală, antrenînd cheltuieli mai mari, impune prin aceasta agricultorului să obţină recolte cît mai apropiate de cele maxime, deci impune menţinerea solului în cele mai bune condiţii de afînare. Pe de altă parte, rezultatele prezentate, dovedesc că pe solurile cu stare fizică proastă, nitrificarea poate fi adusă la nivel normal numai prin administrarea unor doze foarte mari de îngrăşămînt amoniacal. În funcţie de necesităţi şi resurse, în practica agricolă este posibil fie să se administreze îngrăşăminte pe acele terenuri care asigură valorificarea lor maximă, fie să se sporească productivitatea unor terenuri cu însuşiri fizice nefavorabile, prin utilizarea unor doze mari de îngrăşămînt azotat. Fireşte că în acest al doilea caz, pe lîngă fertilizarea cu doze mari, se cer luate şi măsuri de corectare a altor carenţe ale terenurilor excesiv tasate.

După cum s-a arătat, îngrăşămintele acţionează asupra microflorei, nu numai prin conţinutul lor în azot, ci şi prin forma sub care se prezintă azotul. Azotul amoniacal favorizează solubilizarea biologică a fosfaţilor şi descompunerea celulozei (Yoshida şi colab., 1973).

Numeroase cercetări se referă la folosirea repetată a îngrăşămintelor fiziologic acide. În astfel de cazuri, Mişustin şi Prokoşev (1949) arată că este redusă activitatea biologică globală a solului şi, ca o consecinţă probabilă, se înregistrează reducerea recoltei.

Într-o experienţă executată pe un sol nisipos, Eliade şi Ghinea (1967) au urmărit influenţa pe care o exercită asupra nitrificării patru forme diferite de azot. Îngrăşămîntul s-a administrat în trei doze: o

Tabelul 32

Nitrificarea diferitelor forme de azot într-un sol nisipos (după E l i a d e și G h i n e a, 1967)

Forma de azot	Doza (ppm)	Cantitatea de azot nitric format (ppm)
Uree	30,5	225
	61,0	399
	1 016,0	56
Sulfat de amoniu	30,5	109
	61,0	92
	1 016,0	23
Azotat de amoniu	30,5	206
	61,0	353
	1 016,0	525
Clorură de amoniu	30,5	85
	61,0	53
	1 016,0	13

doză moderată de îngrășământ, o doză mare și o doză maximă. Din datele tabelului 32 se vede că îngrășământul dat sub formă de clorură de amoniu, nitrifică foarte slab chiar la doza mică, la următoarele doze nitrificarea fiind inexistentă. Sulfatul de amoniu se comportă în același mod, în timp ce azotatul de amoniu determină o creștere continuă a intensității nitrificării.

Ureea determină o creștere a nitrificării numai cînd este aplicată în doze moderate. Ureea introdusă în sol poate fi supusă levigării. Ea este reținută de coloizii solului mai slab decît ionii de amoniu. De aceea în ceea ce privește posibilitatea levigării, ureea ocupă o poziție intermediară între azotul nitric și cel amoniacal. În aceste condiții, eficiența ureii poate fi redusă dacă se aplică cu apa de irigație pe soluri cu conținut redus de materie organică și argilă. C o n r a d și A d a m s (1940) consideră însă că, deși ureea are un potențial ridicat de levigare, transformarea ei rapidă în sol împiedică acest fenomen. În solurile cultivate, hidroliza ureii se desfășoară foarte rapid, fiind completă — în funcție de temperatură — după 3 — 7 zile.

Viteza hidrolizării depinde nu numai de temperatură, ci și de umiditate, pH, activitatea microbiană. Umiditatea optimă pentru hidroliza ureii este de 50 — 60% din capacitatea pentru cîmp (L a s o t a, 1966). Hidroliza ureii este mai energică în solurile acide și slab structurate. Într-un sol acid (de sub o pădure de molid) ureea s-a hidrolizat în două zile. Din acest azot, 82% a trecut în fracțiunea de amoniu schimbabil. După 42 de zile s-a constatat o oarecare imobilizare a amoniului format. Ca urmare a cantității mari de amoniu, pH-ul solului crește cu 1,5 unități. În condiții obișnuite de pH, acest fenomen nu are loc, deoarece amoniul se nitrifică pe măsură ce se produce, dar în solurile acide, nitrificarea se produce abia după 28 zile de la administrarea ureii și apoi se menține în permanență la un nivel foarte scăzut (R o b e r g e și K n o w l e s, 1966). Pe măsura hidrolizării ureii, iau naștere și o serie de compuși secundari cu azot, a căror cantitate, în

Scanned with OKEN Scanner

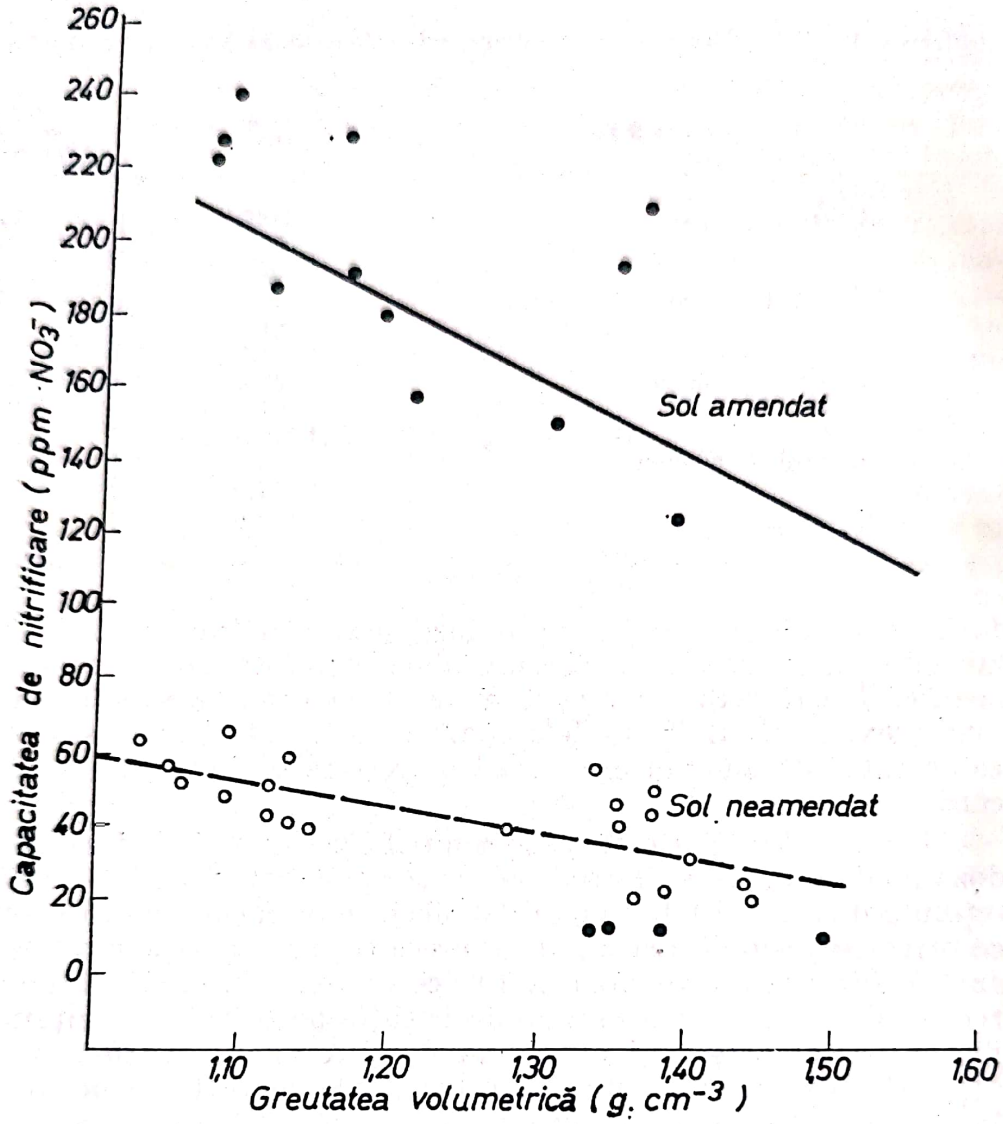


Fig. 42. Influenţa amendării asupra nitrificării în solul diferit tasat (după E l i a d e şi G h i n e a, 1967)

cazul în care nu are loc şi procesul de denitrificare, scade pe măsura nitrificării amoniacului (M c L a r e n, 1970).

Ca şi la celelalte forme de azot, nitrificarea ureii în sol depinde de gradul de tasare. Analize efectuate pe un sol de tip podzol argilo-iluvial pseudogleic, au arătat că intensitatea nitrificării solului îngrăşat cu uree, scade proporţional cu tasarea (fig. 42). Amendarea cu calcar duce la sporirea diferenţelor.

Stimularea florei ureolitice grăbeşte hidroliza ureii şi previne în acest fel pierderile prin levigare. Acest lucru se poate realiza practic prin îngrăşarea concomitentă cu gunoi de grajd, resturi vegetale în descompunere, sau prin administrarea la suprafaţa solului a unui mulci de porumb (M o e, 1967).

Scanned with OKEN Scanner

Pentru hidroliza ureii folosite ca îngrășământ, prezența microflorei active nu este absolut necesară. Este necesar ca în sol să se fi acumulat anterior enzima specifică — ureaza. Aceasta este situația solurilor îngrășate cu un an în urmă cu gunoi de grajd. La concentrații mai mari de 800 ppm azot sub formă de uree, în absența microflorei active, viteza hidrolizei nu mai crește, datorită atingerii limitei de activitate a enzimei.

În cazul unei hidrolize energice a ureii se produc cantități însemnate de amoniac, care uneori nu pot fi reținute în sol și se pierd prin volatilizare. Pierderile prin volatilizare se corelează deci în primul rînd cu viteza hidrolizei (M o e , 1967). Pierderile prin volatilizare mai sînt determinate și de calitatea solului : solurile neutre sau acide pierd puțin azot prin volatilizare ; cele alcaline și cele acide calcarizate, au potențial mare de pierdere prin volatilizare. Pierderile prin volatilizare sînt invers proporționale cu conținutul solului în humus.

Este probabil că, în afara volatilizării amoniacului, au loc și alte pierderi de azot sub formă gazoasă. Deși ureea poate trece sub formă de azot molecular prin reacția van Slyke, importanța practică a acestui proces este totuși îndoielnică. De asemenea, pierderile de azot sub formă oxidată sînt neînsemnate. În general, se apreciază că pierderile prin volatilizare sînt mai importante decît cele datorită levigării, dar evident, această concluzie nu se verifică în toate cazurile.

Amoniacul produs prin hidroliza ureii determină creșterea puternică a nitrificării în sol. Azotul nitric format poate fi, de asemenea, levigat mai puternic decît în cazul încorporării altor forme de azot, a căror nitrificare are loc mai lent. Spre deosebire de amonificare, nitrificarea ureii crește proporțional cu pH-ul solului.

În experiențe pe modele, E l i a d e și colab. (1970) au urmărit pierderile relative de azot datorită volatilizării și levigării ureii pe un sol de tip cernoziom mediu levigat (tab. 33). Rezultatele au arătat că pierderile

Tabelul 33

Pierderile comparative de azot prin levigare și volatilizare într-un cernoziom mediu levigat, îmbogățit cu 138 ppm azot amidic (după E l i a d e și colab., 1970)

Temperatura de incubare	Timpul la care intervine spălarea	N amidic		N nitric		N amoniacal		Total
		ppm	%	ppm	%	ppm	%	
4°C	24 ore	112,5	81,5	6,6	4,8	0,9	0	119,2
	48 ore	87,3	63,3	19,4	14,1	0,8	0,8	107,7
	4 zile	75,8	54,9	20,3	14,7	1,6	1,2	97,7
	8 zile	73,8	53,5	22,9	16,6	1,5	1,5	98,8
37°C	24 ore	99,8	72,3	9,0	6,5	2,1	1,5	110,9
	48 ore	35,1	25,4	45,8	32,2	18,4	13,5	99,3
	4 zile	6,0	4,3	50,0	36,2	37,6	27,2	93,6
	8 zile	0,0	0,0	45,7	70,0	53,4	39,1	149,1
28°C	24 ore	102,2	74,0	10,0	7,2	0,7	0,4	112,9
	48 ore	57,9	42,0	47,1	34,1	10,0	8,0	104,9
	4 zile	11,2	8,5	54,2	40,0	24,6	17,9	90,0
	8 zile	3,4	2,5	96,4	70,0	44,3	32,1	144,1

Scanned with OKEN Scanner

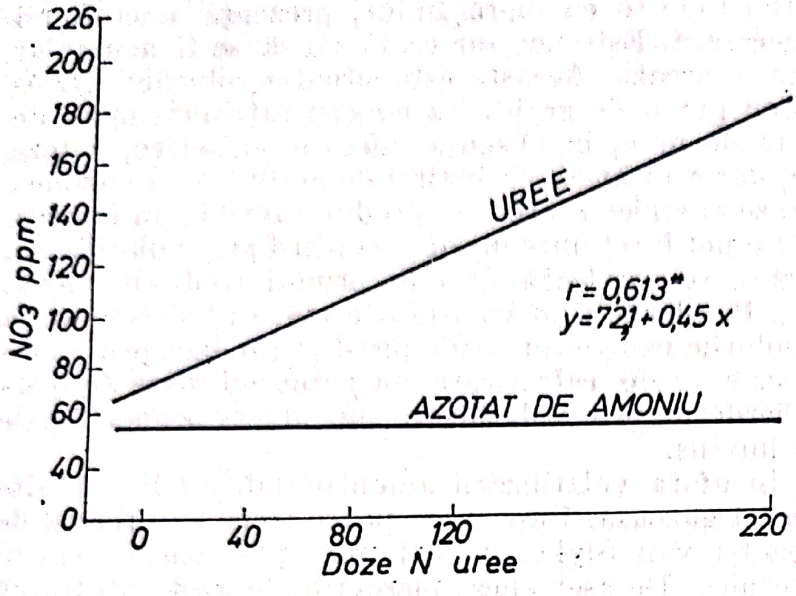


Fig. 43. Nitrificarea ureii şi a azotatului de amoniu, toamna, sub cultura grîului (după E l i a d e şi colab., 1970)

de azot prin volatilizare au fost relativ reduse. Percolarea solului cu cantităţi mari de apă determină o levigare intensă a ureii şi nitraţilor. Dacă spălarea nu intervine în primele 48 ore de la administrare, pierderile se reduc mult, iar după 4 zile, spălarea ureii practic încetează la solurile cu temperatură suficient de ridicată. În această perioadă are însă loc o spălare intensă a nitraţilor.

Experienţele de cîmp (E l i a d e şi colab., 1970) au arătat că toamna, sub cultura de grîu, hidroliza şi nitrificarea ureii se desfăşoară foarte rapid, în timp ce procesul de nitrificare a amoniului din azotat are loc mai lent (fig. 43). Concomitent însă şi spălarea nitraţilor este mai intensă în cazul îngrăşării cu uree. În schimb, azotatul de amoniu, mai puţin supus nitrificării în toamnă, este nitrificat mai intens în cursul primăverii.

Îngrăşarea cu uree provoacă creşterea abundentă a numărului de bacterii din sol (F l o r e n z a n o şi M a t e r a s s i, 1968; E l i a d e şi colab., 1970; S a l o n i u s, 1972).

În ceea ce priveşte numărul ciupercilor, acesta este, de regulă, mai mic în variantele îngrăşate cu uree şi amoniac anhidru şi mai mare în cazul îngrăşării cu azotat de amoniu. V r a n y (1972) semnalează că aplicarea ureii sporeşte numărul bacteriilor din sol antagoniste pentru *Fusarium*. Frecvenţa atacului acestei ciuperci la grîu scade şi recolta este sporită şi pe această cale.

Din punct de vedere taxonomic, îngrăşămintele cu azot contribuie la menţinerea în sol a unui procent mai ridicat de bacterii din specia *Bacillus megaterium*, mai ales în cazul îngrăşării cu azotat de amoniu. O altă bacterie sporogenă — *Bacillus subtilis* — este de asemenea stimulată cu precădere în condiţiile îngrăşării cu uree. Actinomicetele şi microorganismele celulolitice suferă modificări numerice şi taxonomice neînsemnate (E l i a d e şi G h i n e a, 1962).

F l o r e n z a n o şi M a t e r a s s i (1968) semnalează faptul că îngrăşarea cu uree favorizează acumularea în rizosferă a actinomicetelor antagoniste pentru ciupercile fitopatogene din grupul *Fusarium*.

Nitraţii produşi prin oxidarea amoniacului pot fi levigaţi. Levigarea nitraţilor este un fenomen dăunător agriculturii.

Scanned with OKEN Scanner

În România primele studii privind levigarea nitraților în sol au fost întreprinse de Staicu (1938). În experiențele efectuate pe un sol cernoziomic moderat levigat (Iș fan, 1970; Hera și colab., 1972; Păltineanu și colab., 1973) au fost găsiți nitrați (sub cultura de porumb), chiar la adîncimea de 3 metri.

Pierderile prin levigare a nitraților pot fi reduse prin :

— folosirea unor inhibitori specifici ai nitrificării;

— folosirea de îngrășăminte greu solubile (de tipul ureoformaldehidei, sau derivaților crotonici);

— încorporarea de material organic, care să favorizeze trecerea acestor substanțe în compuși organici;

— administrarea fazială a nitraților în funcție de nevoile fiecărei culturi.

Reducerea pierderilor de nitrați în urma tratării cu unele substanțe fitofarmaceutice a fost semnalată încă de Tom și Clark (1943). Numeroase pesticide inhibă nitrificarea. Goring (1962), Goring și Cleve (1962), Turner și colab. (1962), Vlasak (1964), Calancea (1971), Calancea și colab. (1971) au studiat 2-cloro-6 (triclorometil) piridina, comercializată sub numele de N-Serve. Această substanță, în diluție 0,2 ppm, inhibă nitrificarea timp de patru săptămîni; în diluția 0,5 ppm, timp de 8 săptămîni, iar în diluția de 1 ppm, timp de 12 săptămîni. Avantajul folosirii acestui preparat constă în aceea că el este selectiv, inhibînd specific numai citocromoxidaza bacteriilor din genul *Nitrosomonas*, care oxidează amoniacul. Alte procese microbiene (Tu , 1973) nu sînt sensibile la acest produs (cu excepția hidrolizei ureii, fapt pentru care produsul nu se recomandă în cazul încorporării acestui îngrășămînt), decît la concentrații foarte mari. În urma folosirii inhibitorilor de nitrificare s-a dublat coeficientul de utilizare a azotului (Patrick și colab., 1968; Peterburgski și Korceaghina, 1974), a sporit absorbția fosforului în plante (Spratt, 1973); plantele nu au mai căzut (Smiley și Cook, 1973).

O altă cale de a evita pierderile de azot în sol constă în folosirea îngrășămintelor cu azot greu solubil, de tipul ureoformaldehidelor, derivaților crotonici, îngrășămintelor cu humus sau lignino-amoniacale. Azotul din aceste îngrășăminte este eliberat treptat, fiind utilizat de către plante și microorganisme pe măsură ce se formează. Eliberarea azotului din îngrășămintele ureoformaldehidice se datorește unor procese biologice (Fuller și Clark, 1947), care au loc sub acțiunea ciupercilor din sol. După observațiile lui Müller și Heising (1968), aproximativ 1/3 din ciupercile din sol sînt capabile să descompună aceste îngrășăminte eliberînd azotul. La acest proces mai participă, de asemenea, o specie de *Agrobacterium* (Corke și Robinson, 1966).

Intensitatea descompunerii ureoformaldehidelor depinde de valoarea raportului uree : formaldehidă. Cînd acesta este 2 : 1 sau mai mare, nitrificarea decurge normal. La valori mai mici, nitrificarea scade, pentru ca la valoarea raportului de 1 : 1, aceasta să fie complet blocată. Höflicher (1972) arată că aceste îngrășăminte au o acțiune favorabilă asupra activității microbiene a solurilor. Cel mai bun efect îl exercită îngrășămintele lignino-amoniacale, cu o structură asemănătoare humusului

Scanned with OKEN Scanner

(Malîghina şi colab., 1974). Balba şi Sheta (1973) consideră însă că rezultate mai bune ar da folosirea îngrăşămintelor solubile, dar acoperite cu o peliculă protectoare.

Posibilitatea evitării pierderilor de azot din îngrăşămînt prin aplicarea materialelor organice s-a discutat mai sus.

Îngrăşarea cu azot provoacă diferenţieri de ordin biochimic în funcţie de epoca încorporării în sol. În cazul îngrăşării cu azotat de amoniu, varianta care primeşte în toamnă întreaga cantitate de îngrăşămînt are în mod potenţial posibilitatea de a nitrifica mai intens, comparativ cu alte variante în care doza de îngrăşămînt se dă numai în primăvară sau fracţionat — în toamnă şi în primăvară. Privită numai sub aspectul producerii nitraţilor în sol, îngrăşarea de toamnă ar avea o semnificaţie practică deosebită, dacă n-ar exista posibilitatea, de altfel frecvent întîlnită, de spălare a acestora în straturile profunde ale solului datorită precipitaţiilor bogate în timpul iernii şi începutul primăverii. De aceea efectul levigării prevalează, astfel că aplicarea fracţionată a azotului dă rezultate de producţie superioare (Işfan şi colab., 1973).

Potenţialul de nitrificare al solului îngrăşat în toamnă se menţine mai ridicat pînă în primăvară, la sfîrşitul lunii aprilie. Începînd de la această dată capacitatea de nitrificare a acestui sol scade foarte mult, rezervele de nitraţi se epuizează, devenind factor limitativ pentru dezvoltarea plantelor. Cum conţinutul de nitraţi în acest timp se găseşte chiar sub nivelul celui înregistrat în varianta martor, neîngrăşată, există premize de acceptare a ipotezei că are loc şi o epuizare treptată a rezervei organice de azot a solului. În acelaşi timp, solul care primeşte îngrăşămînt şi în primăvară, mai cu seamă cel ce îl primeşte integral în această perioadă dispune de rezerve importante de azot nitric, situaţie cu deosebire favorabilă obţinerii unor recolte superioare atît din punct de vedere cantitativ, cît şi calitativ.

Epoca de administrare a îngrăşămintelor minerale cu azot determină modificări şi în raporturile numerice a diferitelor grupe de microorganisme. S-a constatat că atît numărul actinomicetelor, cît şi al ciupercilor este mai mare în solul în care îngrăşămintele se aplică fazial (tab. 34).

Din punct de vedere taxonomic, nu au fost semnalate diferenţe determinate de epoca şi modul de aplicare a îngrăşămintelor.

Tabelul 34

Numărul actinomicetelor (milioane la g sol) şi al ciupercilor (mii la g sol) într-un cernoziom mediu levigat în funcţie de forma şi epoca de administrare a azotului (după Eliade şi Ghinea, 1967)

Forma de îngrăşămînt	Actinomicete		Ciuperci	
	Modul de administrare			
	Toamna	Fazial	Toamna	Fazial
Uree	2,670	7,670	93	107
Azotat de amoniu	4,000	6,300	110	120
Amoniac anhidru	4,000	5,330	177	73

Scanned with OKEN Scanner

2.2. FERTILIZAREA CU FOSFOR

Problema influenței fertilizării cu fosfor a fost des abordată. Ca urmare, numeroase cercetări au stabilit că pe solurile slab aprovizionate cu fosfor, adaosul de fosfați naturali stimulează evident respirația solului (Dessay și Sundara Rao, 1948; Schwegler, 1957; Ruschmeyer și Schmidt, 1958; Roche și de Barjac, 1959; Drobnik și Kramer, 1960; Tradieux-Roche, 1966). În solurile acide, efectul favorabil al îngrășării cu fosfor a fost semnalat numai în cazul aplicării pe fond amendat (Tamm și Krzysch, 1964). Domsch (1962) demonstrează că efectul fosforului depinde de doza în care este aplicat. Îngrășarea în exces cu acest element atrage după sine înhibarea respirației microorganismelor din sol. Anterior, Strzelczyk (1958) a arătat că numai solurile al căror conținut în fosfor mobil nu depășește 15 mg/kg sol, constituie medii prielnice pentru înmulțirea microflorei solului. Rezultatele de mai sus au fost confirmate ulterior de Skocinska (1966), Shetty și Rangaswami (1969).

Se poate afirma că, în general, toate grupele de microorganisme reacționează favorabil față de fosfor, atunci cînd acesta se găsește în sol în cantități insuficiente.

Ciupercile, în primul rînd, sînt extrem de receptive. Guillemat și Montegut (1960), expunînd rezultatele unor experiențe de laborator cu diferite îngrășăminte, arată că numărul lor crește în prezența fosforului cu 36%. Dintre acestea se dezvoltă mai ales *Penicillium canescens*, *Trichoderma album*, *Cylindrocarpon* sp., *Gliobotrys* sp., *Monotospora* sp.

A fost semnalată de asemenea creșterea capacității de celuloliză a solului (Strzelczyk, 1958; Roche și de Barjac, 1959; Berezova și Sorokina, 1963), precum și intensificarea activității bacteriilor fixatoare de azot aerobe și simbiotice (Müller, 1968). Capacitatea de nitrificare a solului îngrășat cu fosfor este mai intensă comparativ cu cea a solului neîngrășat (Strzelczyk, 1958; Skocinsca, 1966).

În rizosfera plantelor, îngrășarea cu fosfor determină în primul rînd creșterea bacteriilor fixatoare de azot din genul Azotobacter (Hulpoi, 1936).

O problemă foarte controversată în literatura de specialitate se referă la rolul microflorei în transformarea fosfaților din sol în forme asimilabile pentru plante. Confirmînd experiențe mai vechi, Gerretsen (1948) demonstrează că în sol steril, plantele dizolvă mai greu fosfații și dau recolte inferioare, comparativ cu solul nesteril.

Solubilizarea fosforului în sol și în rizosfera plantelor a fost legată de cantitatea de acizi, indiferent dacă aceștia erau produși de plante sau de diferite microorganisme. Printre bacterii, cele din familia *Bacillaceae* și *Enterobacteriaceae* pot produce o cantitate de acizi suficientă pentru a modifica pH-ul solului. S-a precizat astfel (Tardieux-Roche, 1966) că unele tulpini aparținînd genurilor *Bacillus*, *Pseudomonas* și *Agrobacterium* produc acid 2-cetogluconic și gluconic, precum și bioxid de carbon, creînd astfel un mediu acid favorabil solubilizării fosforului.

Se pune însă problema dacă numai simpla prezență a reacției acide a mediului este suficientă pentru a permite trecerea fosforului din forma

Scanned with OKEN Scanner

insolubilă în cea solubilă. Trebuie amintit în această direcţie că, încă din 1908, Sackett, Patten şi Brown presupuneau că solubilizarea fosforului de către bacteriile din sol are loc şi prin alt mecanism, nu numai datorită acidifierii mediului.

Studii ulterioare întreprinse de Berezova şi colab. (1956) nu au putut pune în evidenţă relaţii directe între producerea de acizi la microorganisme şi cantitatea de fosfor solubilizat. Cercetările recente (Tardieux-Roche, 1966) consideră că solubilizarea microbiană a fosfaţilor ar fi neînsemnată fără intervenţia proceselor de chelatizare a calciului, aluminiului şi fierului care menţin fosforul în combinaţii neasimilabile. Duff şi Webley (1959) au stabilit că acidul 2-cetogluconic produs în cantităţi mari de unele bacterii din sol este cel mai activ agent de chelatizare. El deplasează calciul din montmorilonit, hidroxiapatită, wolastonită şi abazită, punînd astfel în libertate fosforul. Printre agenţii activi de chelatizare sînt citaţi şi polizaharidele şi poliuronidele, constituenţi ai substanţelor mucoase ce se întîlnesc în capsulele microbiene. Astfel, Nestorova şi Berezova (1956) au izolat o tulpină de *Pseudomonas calcis* care formează o capsulă mucoasă în care se acumulează pînă la 2,9 mg calciu la 1 g de substanţă microbiană. Capacitatea de chelatizare a mucusului bacterian este în relaţie directă cu cantitatea de acizi uronici pe care-i conţine (Claus şi colaboratorii, 1958). Efectul substanţelor chelatizante nu este dependent de modificările de pH, ci de tăria acţiunii de legare a cationului ce imobilizează fosforul (Wollert şi colab. 1964). Astfel în seria alifatică, hidroxiacizii fixează mai puternic calciul decît acizii graşi din care provin. La aceşti acizi prezenţa grupării OH în poziţia α acţionează mai eficace decît substituţia în poziţia β. Acidul malic solubilizează mai bine fosforul decît acidul succinic şi mai slab decît acidul tartric. Ca excepţii pot fi citaţi acizii piruvic, oxalic şi citric care sînt printre agenţii cei mai activi de chelatizare. În seria aromatică, substituenţii în poziţia para sînt puţini activi.

Proprietatea de a solubiliza fosfaţii pare foarte răspîndită printre microorganisme, mai ales la cele din rizosferă. Louw şi Webley (1959) au izolat din rizosfera ovăzului microorganisme care solubilizau fosforul fără a produce acizi. După datele acestor autori, 82% dintre bacteriile izolate din rizosfera ovăzului au solubilizat fosforul.

Nowotny-Mieczynska şi Golebiovska (1956) şi apoi Kobus (1961) stabilesc că numărul de bacterii ce solubilizează fosforul variază cu tipul de sol, cu adîncimea de la care s-a recoltat proba şi cu gradul de cultivare. În solurile cu pH neutru sau slab alcalin, numărul bacteriilor ce solubilizează fosforul este mai mare decît în cele cu pH sub 7. Cantitatea de argilă, material organic şi fosfor solubil din sol nu au produs variaţii în această privinţă (Tardieux-Roche, 1966).

Rizosfera pare a fi însă mediul cel mai prielnic dezvoltării bacteriilor care solubilizează fosforul (Sperberg, 1958; Katznelson şi Bosse, 1959). S-a constatat că în rizosfera plantelor leguminoase numărul bacteriilor ce solubilizează fosforul este de aproximativ patru ori mai mare ca în rizosfera gramineelor (Tardieux-Roche, 1966). În cazul unei slabe aprovizionări cu fosfor, microflora concurează plantele în asimilarea acestui element. De aceea, carenţa de fosfor este mai

Scanned with OKEN Scanner

bine suportată de plantele crescute în condiții de sterilitate. În cazul unei bune aprovizionări cu fosfor, plantele crescute cu și fără bacterii conțin aceeași cantitate din acest element, dar altfel distribuită. Plantele crescute în condiții de sterilitate sînt îndeosebi bogate în fosfor anorganic și esteri solubili, în timp ce în plantele crescute în condiții naturale se acumulează acizi nucleici, fosfoproteide și fosfolipide (Barber, 1967).

2.3. FERTILIZAREA CU POTASIU

Acțiunea potasiului asupra vieții microbiene din sol este puțin cunoscută. Din puținele date de care dispunem (Rangaswami și Sundashiram, 1964; Müller, Stappel, 1947; Desai și Sundara Rao 1948), rezultă că potasiul nu influențează viața microbiană a solului. Totuși, pornindu-se de la constatarea că fertilizarea cu potasiu influențează favorabil conținutul în azot al solului (Drumont, 1897), s-a presupus că acest element poate activa procesele de amonificare și nitrificare din sol. Activarea acestor procese se datorește însă nu atît acțiunii directe a potasiului, cît mai ales celei indirecte de destructurare a agregatelor de sol (Müller, 1968).

2.4. FERTILIZAREA CU MICROELEMENTE

Acțiunea favorabilă a microelementelor asupra plantelor de cultură, ca și asupra metabolismului animal, este bine cunoscută. Asupra microorganismelor ele acționează în același fel. Numeroase microelemente intră în compoziția enzimelor din plante, animale și microorganisme. Elemente ca fierul, cuprul, molibdenul, strîns legate de transportul de electroni, intră în compoziția enzimelor oxido-reducătoare. Manganul și magneziul iau parte în reacții de transfer, de obicei ale grupărilor fosforice. Datorită capacității lor de chelatizare, ele condiționează formarea complexelor enzimă-substrat. Lipsa microelementelor determină în organisme formarea de „shunturi". Astfel în absența zincului, *Rhizopus nigricans* nu poate fermenta decît incomplet glucoza, pînă la acid fumaric (Forster și Waksman, 1939). Microelementele au, de asemenea, un rol important în producerea antibioticelor: penicilina, streptomicina, reomicina, griseina etc. Se știe că antibioticele sînt activate prin chelatizare de către zinc, cobalt, mangan și cadmiu (Adler și Snoke, 1962).

Microelementele se pot înlocui unul pe celălalt între anumite limite, dar prin înlocuire randamentul scade. Pentru arginază de exemplu, cobaltul poate fi înlocuit cu fier, magnan, nichel, cu scăderea însă a randamentului activității acestei enzime. Pentru carboxilază, manganul asigură randamentul cel mai ridicat.

S-a constatat și un antagonism al ionilor microelementelor în acțiunea lor față de bacterii. Un exces de mangan, cadmiu sau zinc poate provoca carențe de fier. S-a încercat formularea unei ipoteze pentru a explica acest fenomen: traversarea membranelor s-ar face prin transportori specifici, care suprasolicitați la elementul în exces nu mai transportă elementul în carență (Epstein, 1961). De aceea, antagonismul apare

Scanned with OKEN Scanner

între ionii cu proprietăţi similare : calciul provoacă carenţa de stronţiu, clorul pe cea de bor etc. Toxicitatea unor elemente pentru organismele vii ar avea originea în acest fenomen. Astfel, mercurul şi borul şi-ar datora efectul nociv concurării magneziului. Introducerea magneziului în concentraţii mari poate înlătura prin concurenţă efectul toxic al acestor ioni (Lohrman, 1940). Acţiunea toxică a excesului de cobalt, nichel, zinc, se poate combate cu doze mari de fier şi magneziu. Posibilitatea substituirii ionilor între ei a avut desigur un rol excepţional în evoluţia structurilor vii, ea condiţionînd posibilitatea formării unei varietăţi de compuşi cu structură apropiată.

Bacteriile pot concura plantele în absorbţia microelementelor din sol. Experimental s-a determinat capacitatea competitivă faţă de plante a bacteriilor din genul *Azotobacter* în absorbţia molibdenului. În acelaşi timp, prin experienţe cu molibden marcat, s-a dovedit că plantele absorb preferenţial molibdenul organic produs de *Azotobacter*, faţă de cel mineral existent în soluţia solului. Microelementele favorizează atît asimilarea azotului mineral de către microorganisme şi trecerea lui în rezerva de humus a solului, cît şi remineralizarea lui (Premi şi Cornfield, 1970).

Microelementele stimulează activitatea fosfatazică a rizosferei. În experienţe executate pe un sol cernoziomic argilos, introducerea în apa de irigaţie a borului, magneziului, zincului şi cuprului a stimulat microflora din rizosfera plantelor agricole şi îndeosebi *Bacillus cereus* var. *mycoides*. În aceleaşi condiţii magneziul, borul şi cuprul au stimulat fixarea azotului.

Tandon şi Mishra (1969) apreciază că doza pînă la care microelementele stimulează dezvoltarea microflorei este de 0,05 %. Peste această concentraţie microelementele devin de regulă nocive.

a. **Fertilizarea cu fier.** Stapp şi Bortels (1934) şi ulterior Bortels (1936), au demonstrat că fierul este indispensabil pentru microorganismele celulolitice. Dintre acestea, *Cellvibrio* este genul cu necesităţi foarte pronunţate la acest microelement, indiferent de tipul de sol în care se dezvoltă. Speciile genului *Cytophaga* au nevoe de fier numai pe solurile acide. Dintre formele de fier, cel trivalent acţionează mai energic.

b. **Fertilizarea cu cupru.** Cuprul stimulează activitatea microflorei solului. În solurile în care acest element se găseşte în concentraţie optimă, atît numărul total de microorganisme, cît şi respiraţia lor a fost stimulată (Skocinska, 1966; Weissenberg, 1954). *Azotobacter chroococcum* este considerat cel mai sensibil microorganism la carenţa de cupru. Pentru această specie, cuprul este necesar producerii tirozinazei care participă la formarea pigmenţilor bruni (Mulder, 1939).

c. **Fertilizarea cu magneziu.** Înmulţirea bacteriilor din genul Azotobacter este stînjenită în lipsa magneziului (Steinberg, 1938). Acest element este necesar şi pentru microorganismele celulolitice (Stapp şi Bortels, 1934), dintre care *Cellvibrio şi Cytophaga* sînt cele mai sensibile (Bortels, 1936).

d. **Fertilizarea cu zinc.** Pentru foarte multe microorganisme zincul este un element de o deosebită importanţă. În metabolismul ciupercilor,

Scanned with OKEN Scanner

zincul acționează în transformările substanțelor din ciclul lui Krebs (Forster, 1949). Zincul s-a dovedit necesar și pentru *Azotobacter* (Matz, 1930), stimulînd la această bacterie producerea factorilor de creștere. El stimulează, de asemenea, activitatea microorganismelor celulolitice. Pentru toate aceste grupe de microorganisme, zincul, în concentrații supraoptimale, inhibă procesele respiratorii.

e. **Fertilizarea cu bor.** Prezența borului în sol sporește numărul microorganismelor, în special al bacteriilor nitrificatoare și fixatoare de azot din genul *Rhizobium* (Rubencik și Berezova, 1959). În lipsa borului capacitatea de fixare a azotului în sol scade la valori foarte mici (Brendley și Thornton, 1925; Mulder, 1938).

f. **Fertilizarea cu cobalt.** Este semnalat efectul favorabil al cobaltului asupra bacteriilor din genul *Azotobacter* (Radler, 1955).

g. **Fertilizarea cu iod.** Voinova-Raicova (1965) menționează efectul de stimulare al iodului la producerea factorilor de creștere de către *Azotobacter*.

h. **Fertilizarea cu mangan.** Încă din 1916, Bronin și Minges au arătat că manganul în doze mici stimulează activitatea microorganismelor amonificatoare și nitrificatoare. Existența în sol și mai ales în rizosfera plantelor a microorganismelor explică în mare măsură simptomele tipice de carență de mangan la unele plante de cultură. Dintre aceste microorganisme *Bacillus subtilis* și *Flavobacterium lutescens* au exigențe pronunțate la acest element. Ca rezultat al metabolismului lor, manganul trece în forme greu solubile, inaccesibile plantelor.

Manganul acționează și indirect asupra unor specii de bacterii. Este cunoscut în acest sens faptul că manganul limitează toxicitatea orto și pirofosfatului față de *Azotobacter*.

i. **Fertilizarea cu molibden.** Molibdenul are un rol deosebit în activitatea biologică a solului. Molibdenul intră în structura nitrat-reductazei și în cursul reacției specifice, din hexavalent devine pentavalent și apoi trivalent. Molibdenul se întîlnește, de asemenea, în compoziția nitrogenazei, enzimă implicată în procesul de fixarea a azotului. În toate enzimele în a căror structură intră, molibdenul poate fi înlocuit de wolfram și vanadiu, dar cu scăderea randamentului enzimei.

S-a constatat că în solurile cu carență pronunțată în molibden, lipsesc microorganismele din specia *Azotobacter* (Bortels, 1930; 1936, 1937, 1939). A fost de asemenea demonstrat faptul că bacterizarea plantelor leguminoase cu bacterii de nodozități este mai eficace în prezența molibdenului.

2.5. EFECTUL CORECTĂRII PH-ULUI SOLULUI ASUPRA MICROORGANISMELOR

Cea mai mare parte a micropopulației solului preferă un pH apropiat de neutralitate. De aceea, în solurile neutre se întîlnește microflora cea mai abundentă și mai variată. În mod practic, în astfel de soluri se întîlnesc toate grupele de microorganisme cu speciile cele mai reprezentative.

Importanța reacției mediului în viața solului a fost scoasă în evidență de numeroase cercetări. În țara noastră, experiențele lui Ștefanic și colaboratorii (1971), executate pe un podzol argilo-iluvial pseudoglei-

Scanned with OKEN Scanner

zat cu reacţie acidă, au arătat că pentru creşterea activităţii biologice a solului este necesară neutralizarea acidităţii şi fertilizarea acestuia cu elemente nutritive. Lucrînd cu acest tip de sol în vase de vegetaţie, Ştefanic (1968) a constatat că în varianta în care aciditatea solului a fost neutralizată cu carbonat de calciu şi fertilizată cu gunoi de grajd, numărul bacteriilor heterotrofe, celulolitice, fixatoare de azot şi actinomicetelor a fost superior celui întîlnit în varianta în care solul nu a fost neutralizat şi fertilizat. Ca o excepţie însă, trebuie semnalat comportamentul ciupercilor din sol, care se dezvoltă bine numai în condiţiile unei reacţii acide (tabelul 35).

Neutralizarea acidităţii solului, micşorînd competivitatea ciupercilor în lupta pentru hrană, asigură astfel în mod indirect o cale de proliferare celorlalte grupe de microorganisme din sol. Doze de calciu echivalente cu aciditatea hidrolitică, antrenează scăderea de 1,5 — 3,0 ori a numărului de ciuperci din sol. Cele mai sensibile ciuperci faţă de schimbarea spre neutralitate a pH-ului solului sînt cele din genurile : *Fusarium*, *Alternaria*, *Cladosporium* (Bazdrina, 1965; Streis, 1971).

În solurile amendate creşte numărul protozoarelor (El. Kofl şi colab., 1974).

Ca urmare a creşterii numărului, microorganismele din sol desfăşoară şi o activitate biochimică superioară. Astfel, în condiţiile neutralizării pH-ului prin calcarizare, nitrificarea este puternic stimulată. În plus, carbonatul de calciu acţionează favorabil şi prin aceea că este folosit ca sursă de carbon de către bacteriile nitrificatoare.

Cercetări recente (Dommergues şi Mangenot, 1970) au confirmat numeroase alte rezultate obţinute anterior, după care, calcarizarea determină de asemenea creşterea capacităţii de fixare a azotului (liberă şi simbiotică). Calcalizarea îmbunătăţeşte şi regimul sulfului din solurile acide, sporind conţinutul plantelor în acest element, timp de cel puţin 5 ani (Elkins şi Ensminger, 1971).

Deosebit de importantă este influenţa calcalizării asupra mineralizării resturilor vegetale şi asupra humificării. Müller (1967) arată că după amendare are loc în sol sinteza intensă a acizilor humici cenuşii (deosebit de valoroşi din punct de vedere agronomic, deoarece prin inter-

Tabelul 35

Variaţia numerică a microorganismelor ca urmare a neutralizării cu calcar a acidităţii unui sol şi a fertilizării cu NPK şi gunoi de grajd (după Ştefanic, 1968)

Data determinării	Aprilie		Mai		Iunie	
Microflora/g de sol	martor	tratat	martor	tratat	martor	tratat
Bacterii heterotrofe (milioane)	5,2	19	1,6	19	11	13
Bacterii celulolitice (mii)	2,0	130	0,5	22	0,2	0,1
Bacterii fixatoare de azot (unit.)	0	10	10	100	100	100
Actinomicete (mii)	50	300	140	6 300	1 400	1 100
Ciuperci (mii)	80	50	380	380	95	62

Scanned with OKEN Scanner

mediul cationilor de calciu produc cu argilele agregate hidrostabile). În solurile acide, lignina se transformă incomplet și în sol se formează acizi lignino-humici, calitativ inferiori celor cenușii.

Trebuie amintit pe de altă parte, că amendarea solurilor acide stimulează mineralizarea carbonului și azotului din humus, ceea ce uneori poate antrena degradarea structurii solului. Acest fenomen a fost observat la amendarea cu magneziu a solurilor tropicale (Schuffelen și Middelburg, 1954) și în solurile acide nisipoase din Germania, în care, din cauza aerației, mineralizarea humusului decurge foarte intens (Stoklasa și Doerel, 1926). A fost descris și fenomenul contrar: stabilizarea foarte puternică a humusului, urmată de blocarea mineralizării azotului (Tottel 1960).

Neutralizarea solurilor acide are o mare însemnate în activitatea enzimelor din sol. Ștefanic și colaboratorii (1971), au stabilit modificările pe care activitatea diferitelor enzime din sol o suferă ca urmare a calcarizării unui sol acid. În tabelele 36, 37, 38, 39 și 40 sînt redate rezultatele privind însușirile biochimice ale solului la 6 ani după administrarea calcarului și fertilizarea cu gunoi de grajd fermentat și cu NPK.

În toate etapele de analiză se poate observa că odată cu diminuarea acidității, activitatea dehidrogenazică crește. Activitatea acestei enzime, exprimînd o reacție vitală a microorganismelor, demonstrează că și în cazul dozei reduse de calcar, microflora deși nu a crescut numeric mai mult decît în solul necalcarizat, totuși a fost dotată cu o activitate vitală spo-

Tabelul 36

Activitatea dehidrogenazică potențială sub influența calcarizării și fertilizării — mg formazan/100 g sol uscat — (după Ștefanic și colab., 1971)

Data determinării	19 mai 1967			27 iulie 1967			12 octombrie 1967		
Varianta	X	± D	S	X	± D	S	X	± D	S
Fără calcar	0,39	martor		0,00	martor		0,25	martor	
Calcar 5 t/ha	1,85	+1,46	×	0,74	+0,74	×	3,27	+3,02	—
Calcar 10 t/ha	2,47	+2,08	××	2,04	+2,04	××	7,88	+7,63	××

Tabelul 37

Influența calcarizării și fertilizării asupra activității proteazice din sol (coeficient de fluiditate (după Ștefanic și colab., 1971)

Varianta	Fără calcar	Calcar 5 t/ha	Calcar 10 t/ha	Media fertilizării		
				$\overline{X}$	± D	S
Fără fertilizare	1,86	1,85	2,20	1,97	martor	
NPK	1,84	1,88	2,14	1,95	−0,02	—
NPK+gunoi	1,97	2,25	2,33	2,18	+0,21	××
Media calcarizării $\overline{X}$	1,89	1,99	2,22			
±D	martor	+0,10	+0,33			
S		××	××			

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 38

Influenţa calcarizării şi fertilizării asupra activităţii ureazice din sol — mg NH_4/100 g sol uscat — (după Ştefanic şi colab. 1971)

Varianta	Primăvara			Vara		
	$\bar{X}$	± D	S	$\bar{X}$	±D	S
Fără tratament (martor)	22,0	martor	—	30,7	martor	—
Fără calcar + NPK	13,5	— 8,5	00	21,5	— 9,2	00
Fără calcar + NPK + gunoi	31,5	+ 9,5	××	35,3	+ 4,6	—
Calcar 5 t/ha	29,0	martor	—	37,3	martor	—
Calcar + NPK	31,0	+ 2,0	—	33,2	— 4,1	—
Calcar + NPK + gunoi	33,2	+ 4,2	—	45,2	+ 7,9	—
Calcar 10 t/ha	29,7	martor	—	30,5	martor	—
Calcar + NPK	36,5	+ 6,8	×	44,5	+14,0	×××
Calcar + NPK + gunoi	56,3	+26,6	×××	46,6	+16,1	×××

Tabelul 39

Influenţa calcarizării şi fertilizării asupra activităţii zaharazice din sol — diferenţă grade polarimetrice — (după Ştefanic şi colab., 1971)

Varianta	18 mai 1967			27 iulie 1967		
	Acţiunea combinată a factorilor			Influenţa calcarizării		
	$\bar{X}$	± D	S	$\bar{X}$	± D	S
Fără tratament (martor)	0,92	martor	—		*Fără calcar*	
Fără calcar + NPK	1,12	+0,20	××	1,48	martor	—
Fără calcar + NPK + gunoi	0,83	—0,09	—			
Calcar 5 t/ha	0,78	martor	—		*Calcar 5 t/ha*	
Calcar 5 t/ha + NPK	0,75	—0,03	—	1,44	—0,04	—
Calcar 5 t/ha+ NPK + gunoi	0,67	—0,11	—			
Calcar 10 t/ha	0,90	martor	—		*Calcar 10 t/ha*	
Calcar 10 t/ha + NPK	0,47	—0,43	000	1,35	—0,12	000
Calcar 10 t/ha + NPK + gunoi	0,73	—0,17	0			

rită. Modificarea introdusă de autori la metoda propusă de Kiss şi Boaru (1965), prin aceea că nu se adaugă carbonat de calciu în amestecul de reacţie, a permis diferenţierea clară a variantelor analizate, sub raportul influenţei calcarizării asupra biologiei solului.

Activitatea proteazică a fost influenţată distinct semnificativ de fertilizare şi calcarizare toamna, după administrarea gunoiului de grajd şi NPK, mai ales în parcelele calcarizate.

În timpul primăverii şi în vară, s-a constatat că acţiunea combinată a calcarizării şi fertilizării cu gunoi de grajd şi NPK a stimulat activitatea urează. În toamnă, efectul stimulator al fertilizării organo-minerale a fost distinct semnificative. Calcarizarea nu a determinat modificări importante în această perioadă.

Activitatea zaharazică a fost influenţată puternic de calcarizare şi fertilizare numai în primăvară şi vară. Este de remarcat faptul că în

Scanned with OKEN Scanner

primăvară, influența favorabilă a interacțiunii factorilor calcarizare fertilizare permite să se întrezărească de fapt influența negativă a calcarizării, fapt confirmat de rezultatele analizei din vară.

Explicația scăderii activității zaharazice în condițiile calcarizării rezultă din cercetările efectuate de Hofmann și Seegerer (1951) care atribuie nivelul înalt al activității zaharazice din solurile acide, predominanței ciupercilor. Aceste microorganisme produc o zaharază mai activă decît cea bacteriană. Pe măsura creării unor condiții de pH favorabile înmulțirii bacteriilor, acestea elimină prin concurență înmulțirea ciupercilor, iar activitatea zaharazică scade. Prin urmare, scăderea activității zaharazice în solurile acide ca urmare a tratamentelor agrochimice, poate fi folosită ca test al ameliorării condițiilor ecologice.

Activitatea fosfatazică a fost stimulată distinct semnificativ prin calcarizare și fertilizare numai în toamnă după administrarea îngrășămintelor. Se pare că efectul celor 5 t/ha calcar este satisfăcător; creșterea dată de dublarea cantității de calcar, după 6 ani de la aplicare, rămîne neînsemnată. Același lucru se poate spune și despre fertilizarea cu gunoi comparativ cu cea minerală. Rolul gunoiului de grajd în ameliorarea însușirilor fizice, chimice și mai ales biochimice ale solurilor acide este complex; de aceea, lipsa unei influențe favorabile a acestuia asupra activității fosfatazice nu poate fi încă explicată.

Faptul că în cazul frecvenței microorganismelor, a activității dehidrogenazice, proteazice și ureazice, numai calcarizarea cu 10 t/ha determină un efect stimulator, se poate explica prin concluziile la care s-a ajuns pe baza datelor analizelor agrochimice și fitotehnice efectuate de Boeriu (1969): îngrășămintele minerale au tendința să mărească indicii de aciditate ai solului (pH, aluminiu mobil, aciditate hidrolitică, micșorarea gradului de saturație în baze), mai mult pe solul neamendat și mai puțin pe cel amendat. Gunoiul de grajd fermentat a tamponat modificările de mai sus, în special în prezența calcarului. Deosebit de puternică este reducerea cantității de aluminiu mobil (de la 20 — 24 mg/100 g de sol la 2 — 4 mg). Prin administrarea de 5 t/ha calcar, s-a influențat prea puțin asupra mediului ecologic și de aceea, nici gunoiul de grajd, cu toată bogăția sa de elemente nutritive, nu poate fi valorificat

Tabelul 40

Influența calcarizării asupra activității fosfatazice din sol — mg fenol/100 g sol uscat — (după Ștefanic și colab., 1971)

Varianta	Fără calcar	Calcar 5 t/ha	Calcar 10 t/ha	Media fertilizării		
				$\bar{X}$	±D	S
Fără fertilizare	458	645	624	576	martor	
NPK	637	686	700	674	+98	xx
NPK + gunoi de grajd	623	660	680	654	+78	xx
Media calcarizării						
$\bar{X}$	573	664	668			
±D	martor	+91	+95			
S		xx	xx			

Scanned with OKEN Scanner

de microflora solului în mod satisfăcător, aşa cum se întîmplă în cazul calcarizării cu 10 t/ha.

Influenţa reacţiei acide a solului asupra microflorei din rizosfera plantelor a fost mai puţin studiată. Rovira (1961) a urmărit efectul aplicării oxidului de calciu, singur şi combinat cu îngrăşăminte minerale asupra numărului de bacterii şi de ciuperci din rizosfera trifoiului roşu. Reacţia solului s-a corectat de la pH = 4,8 la pH = 7,0. Corespunzător, numărul bacteriilor a crescut de la 443 milioane la gram de rădăcină în solul acid, la 1430 milioane în solul care a primit calcar şi îngrăşăminte minerale. Concomitent s-a înregistrat şi creşterea numărului de ciuperci de la 40 milioane la 106 milioane la gram de rădăcină.

Experienţele efectuate de Ştefanic (1968) pe un podzol argiloiluvial pseudogleizat au arătat că faţă de varianta martor, prin administrarea calcarului în doza de 5 t/ha, numărul total de bacterii rizosferice la grîu a crescut de la 167 milioane la 321 milioane la 1 m² de suprafaţă de adsorbţie a rădăcinii. Creşterea aceasta s-a realizat pe baza măririi numărului de bacterii nesporogene gram-negative. Acelaşi sol, tratat cu carbonat de calciu la nivelul acidităţii hidrolitice, fertilizat cu gunoi de grajd şi NPK şi semănat cu mazăre, a prezentat în rizosferă acestei plante, comparativ cu solul martor (neamendat şi nefertilizat) un număr de 438 milioane bacterii faţă de 29 milioane.

VI. SUBSTANŢELE FITOFARMACEUTICE (PESTICIDELE) ŞI MICROPOPULAŢIA SOLULUI

1. GENERALITĂŢI

Agricultura modernă foloseşte pe scară largă substanţele chimice pentru protejarea culturilor de diverşi dăunători. Avantajele economice şi de productivitate pe care acestea le aduc sînt binecunoscute, după cum binecunoscut (în special în ultimul timp) este şi efectul poluant al unora din aceste substanţe. Efectul lor depăşeşte cu mult pe cel al poluării cu nitraţi, despre care s-a discutat în capitolul anterior.

Prin utilizarea îngrăşămintelor cu azot şi mai ales a substanţelor fitofarmaceutice, agricultura contribuie şi ea aşadar la acest fenomen periculos denumit poluare. Efectele poluante ale substanţelor de uz agricol au însă caractere specifice, net diferite de cele ale poluanţilor industriali. Ele se aplică pe sol sau pe plante (de unde ajung adesea tot în sol), astfel încît acesta este elementul de mediu vizat în primul rînd de poluarea agricolă (în secundar şi apa), în timp ce poluarea industrială vizează aerul şi apa, în secundar solul.

Poluanţii agricoli au caracter *obligatoriu*, ei fiind introduşi de om intenţionat în mediul ambiant, spre a-i modifica echilibrul biologic într-un sens favorabil intereselor sale economice, în timp ce poluanţii industriali au caracterul unor pierderi nedorite, dar inevitabile, în cadrul procesului de producţie (sînt poluanţi accidentali).

Sursele industriale de poluare sînt strict localizate, cele agricole interesează suprafeţe vaste; de aci rezultă dificultatea controlului în al

Scanned with OKEN Scanner

doilea caz. Adăugînd la caracteristicile expuse activitatea biologică înaltă a pesticidelor (ele omoară organismele sensibile la concentrații de zecimi de părți pe milion), se înțelege de ce Commoner (1970) consideră că pesticidele sînt poluanții cei mai primejdioși, în egală măsură cu substanțele radioactive.

„Criza ecologică" (Leoni, 1971) în care fenomenul de poluare a plasat țările capitaliste dezvoltate, a determinat toate statele lumii să ia măsuri pentru protecția calității mediului. În România astfel de măsuri legislative și organizatorice au fost luate înainte ca fenomenul poluant să capete amploarea pe care o are în alte țări, pornindu-se de la binecunoscuta zicală ce spune că este mai ușor să previi decît să combați. Protecția mediului reprezintă un capitol important din Programul partidului în care se prevede obligația de a se „adopta tehnologii nepoluante". Specialiștii agricoli trebuie așadar să cunoască esența fenomenului de poluare în această ramură economică, manifestările sale, caracteristicile substanțelor fitofarmaceutice.

Caracteristicile poluante ale unor substanțe fitofarmaceutice se leagă fie de remanența lor mai îndelungată decît este de dorit (cazul tipic fiind al erbicidelor reziduale, care reduc recolta plantelor postmergătoare culturilor tratate, sau al insecticidelor organoclorinate, care poluează produsele alimentare), fie de faptul că substanța respectivă are și alte proprietăți biologice decît cele pentru care a fost aplicată (insecticidele aplicate pentru a distruge dăunătorii culturilor sînt toxice și pentru insectele predatoare, utile agriculturii; fungicidele inhibă nu numai microorganismele fitopatogene, ci și microflora folositoare din sol etc.). O sinteză a acestor efecte se prezintă în tabelul 41.

Trebuie arătat aci că simpla remanență a unui produs nu poate constitui un motiv de a aprecia că acesta are efect poluant, atîta vreme cît nu s-a demonstrat clar că are efecte nefavorabile omului. Acesta nu este cazul DDT-ului, a cărui remanență îndelungată a fost speculată fie de „presa de senzație" din Occident, fie de concurenții interesați a plasa pe piață produse de înlocuire, care s-au dovedit însă mult mai periculoase.

Introducerea sau înlocuirea unui produs trebuie făcută numai după studii științifice complexe, în care cercetarea comportării acestuia în sol trebuie să joace un rol central.

Upchurch (1971) arată că aceste studii sînt importante din cel puțin trei motive:

— sînt indispensabile protecției omului și mediului ambiant;

— sînt absolut necesare stabilirii dozelor raționale și metodelor corecte de aplicare a acestor substanțe;

— s-au dovedit de mare folos găsirii unor noi pesticide și amestecuri mai eficiente.

Așa cum s-a arătat, s-au schițat de la început două direcții de cercetare a interrelațiilor pesticide—microflora solului:

— rolul microflorei în detoxificarea solului tratat cu pesticide;

— pesticidele ca factor de „stress", de modificare a echilibrului microbian al solului.

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 41

Efectul potențial al substanțelor fitofarmaceutice

Elementul de mediu	Modificările produse
1. Mediul abiotic	Prezența reziduurilor în sol, apă, aer
2. Plante	a. prezența reziduurilor b. fitotoxicitatea c. schimbări de vegetație (de exemplu la erbicide)
3. Animale	a. prezența reziduurilor în animalele domestice și sălbatice: b. efecte fiziologice (exemplu: neviabilitatea ouălor la păsări) c. mortalitatea unor specii sălbatice (mamifere, păsări, pești) d. mortalitatea unor insecte folositoare, prădătoare și parazite e. schimbări în populațiile de insecte (de exemplu dezvoltarea unor dăunători secundari, ca urmare a pieirii insectelor prădătoare)
4. Om	a. prezența reziduurilor în țesuturi și organe b. efectul expunerii în procesul de producție
5. Alimente	prezența reziduurilor
6. Dăunătorul de distrus	apariția rezistenței
7. Microfloră	a. efect general depresiv b. modificarea echilibrului natural dintre grupele de microorganisme (de exemplu inhibarea nitrificării a celulolizei etc.). c. apariția de tulpini microbiene capabile să metabolizeze pesticidul d. modificarea agresivității unor microorganisme patogene din sol e. apariția de metaboliți fiziologic activi pe plante, animale, microorganisme („efect de activare")

Atenția principală a fost acordată pînă în prezent primei direcții, dar se pare că în viitor al doilea aspect va deveni din ce în ce mai important (Gunner, 1970).

2. DETOXIFICAREA SOLURILOR TRATATE CU SUBSTANȚE FITOFARMACEUTICE ȘI ROLUL MICROFLOREI

În urma cercetărilor întreprinse s-au stabilit căile prin care are loc eliminarea din mediile naturale a substanțelor fitofarmaceutice (Ercegovitch și Frear, 1964).

2.1. VOLATILIZAREA

Prin volatilizare se elimină substanțele fitofarmaceutice cu tensiune mare de vapori, dar acest proces reprezintă o detoxificare adevărată, numai pentru unele pesticide care, după evaporare, se descompun în

Scanned with OKEN Scanner

atmosferă, sub influența radiației solare (spre exemplu insecticidele organofosforice). Alte pesticide însă, evaporîndu-se, poluează atmosfera și ajung apoi în sol cu apa de precipitații.

Intensitatea volatilizării crește odată cu temperatura și umiditatea și scade în funcție de capacitatea solului de a fixa aceste substanțe. Moleculele de apă din sol concurează cu pesticidele la fixare pe sol, grăbind astfel volatilizarea (Harris și Hitchoa, 1972; Scott și colab., 1974). Apa resolubilizează substanțele fixate și ușurează de asemenea evaporarea acestora odată cu propriile-i molecule, printr-un fenomen de codistilare (Harris și Lichtenstein, 1961; Lichtenstein și Schultz, 1961).

Prin volatilizare ajung în atmosferă insecticidele organoclorinate (Edwards, 1966; Saha, 1971) și organofosforice (Spencer, 1971; Yaron și Salzsman, 1972 etc), precum și numeroase erbicide (tiolcarbamați — toluidine etc).

Volatilizarea pesticidelor este mai slabă în cazul solurilor compactate (Ritter și colab., 1973).

2.2. LEVIGAREA

Levigarea substanțelor fitofarmaceutice trebuie privită mai degrabă ca un fenomen negativ. Este adevărat că pe această cale scade cantitatea de reziduuri din sol, dar pesticidele levigate pot ajunge în apele freatice și de suprafață poluîndu-le. Alexander (1969) citează în acest sens antrenarea erbicidului 2,4 D în apa freatică într-o regiune a S.U.A., după care apa potabilă a căpătat un gust neplăcut timp de 4—5 ani. Apa de scurgere de pe terenurile tratate cu dieldrin este toxică pentru pești chiar diluată 1 : 3.

Levigarea este deosebit de periculoasă pe terenurile irigate, unde pe lîngă fauna și flora acvatică pot fi afectate și diferite culturi agricole sensibile (Sokolov și colab., 1974; Ionescu și Moscalu, 1973). În cazul orezului, tratarea cu propanil a dus (prin difuzie) la infestarea cu reziduuri (rezultate din metabolizarea parțială a erbicidului) a culturilor învecinate, netratate (Kaufman 1971).

Levigarea limitează adesea efectul pesticidelor, așa cum s-a constatat în cazul erbicidelor picloram (Goring și Hamaker, 1971; Bovey și Scifres, 1971) și TCA (Holly, 1962).

Majoritatea substanțelor fitofarmaceutice moderne au o solubilitate foarte redusă (fig. 44) și din acest motiv rămîn concentrate în primii 5—10 cm de la suprafața solului (Lichtenstein și colab., 1961; Sokolov și colab., 1974 etc.). În cazul triazinelor s-a constatat însă că aplicarea de doze mari, repetate timp de mai mulți ani, poate duce la antrenarea lor pînă la adîncimea 30—70 cm (Spiridonov și Iakovlev, 1967; Clay, 1973 etc). Levigarea lor crește proporțional cu doza și cu cantitatea de precipitații și scade proporțional cu conținutul în humus al solului (Voitehova, 1974).

Descompunerea substanțelor fitofarmaceutice are loc cu intensitate maximă în stratul superficial al solului. De aceea levigarea lor le mărește persistența și, deci, riscul de poluare.

Scanned with OKEN Scanner

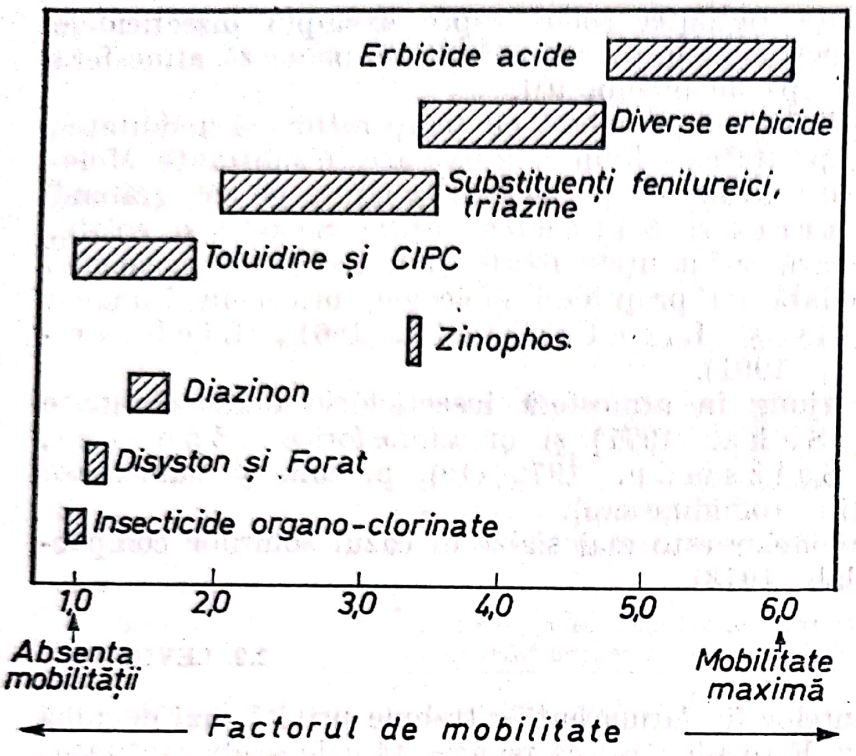


Fig. 44. Mobilitatea substanțelor fitofarmaceutice în sol (după H a r r i s, 1969)

Insecticidele dienice (aldrin, dieldrin) nu se levigă, datorită slabei lor solubilități și rămîn concentrate în primii 10 cm de sol. Produșii care rezultă din descompunerea lor parțială sînt însă solubili și pot fi spălați, uneori infestînd apa freatică. Rezultă deci necesitatea ca, atunci cînd se apreciază efectele ecologice ale substanțelor fitofarmaceutice, să se țină seama și de produșii metabolismului intermediar (K o r t e, 1971). Apa poate antrena substanțele fitofarmaceutice și prin spălarea în profunzime a humusului și argilelor pe care acestea sînt fixate.

2.3. ADSORBȚIA

Adsorbția substanțelor fitofarmaceutice la suprafața particulelor de sol constituie cauza fixării acestora. Interesul practic al acestui fenomen este deosebit de important întrucît el determină în cea mai mare măsură doza agronomic necesară pentru substanțele fitofarmaceutice ce se aplică pe sol. Pentru a ilustra acest fapt ne vom referi la erbicidele triazinice. După cum se știe, în majoritatea solurilor din țara noastră, este nevoie de o doză dublă sau chiar triplă de atrazin (sau alte triazine) comparativ cu ceea ce se recomandă în Europa de vest. Printre numeroasele cauze incriminate a produce acest fenomen, o foarte mare importanță s-a atribuit adsorbției mai puternice. Determinările efectuate (folosind Atrazin marcat cu ^{14}C pe ciclu) au confirmat acest punct de vedere (tab. 42).

Din datele prezentate, reiese clar că pe solul de tip cernoziom moderat levigat, atrazinul se adsoarbe de două ori mai intens decît pe solul luat ca etalon, ceea ce justifică necesitatea unor doze ridicate de triazine. Pentru cernoziomul carbonatic și pentru solul podzolic, adsorbția a fost de asemenea mai puternică decît pentru solul etalon.

Fenomenele de adsorbție pe sol sînt caracteristice pentru toate substanțele fitofarmaceutice cu caracter bazic, desigur în măsură diferită. Adsorbția se poate datora unor cauze complexe. (B a i l e y și W h i t e, 1964; B i g g a r și C h e u n g, 1973).

Tabelul 42

Adsorbția atrazinului în diferite tipuri de sol (în % ^{14}C fixat pe sol) (după Ghinea și Gheorghiade, 1970)

Tipul de sol	Adsorbția inițială	Adsorbția reziduală după spălare	Adsorbția reziduală după două spălări
Sol standard pentru vestul Europei Möhlin (Elveția)	14,1	6,9	5,45
Cernoziom moderat levigat (Fundulea)	28,9	17,4	14,08
Cernoziom carbonatic (Valu lui Traian)	20,1	10,7	8,31
Podzol tipic (Albota)	20,8	11,6	9,48
Podzol argilo-iluvial (Livada)	17,8	12,5	11,6

Se știe că substanțele organice care conțin grupări NH pot forma punți de hidrogen între aceste grupări și oxigenul argilelor sau humusului.

Adsorbția substanțelor fitofarmaceutice în sol este determinată în primul rînd de capacitatea de schimb cationic, conținutul și calitatea humusului, conținutul și calitatea argilei (Salzsman și Yaron, 1971). Un rol secundar joacă pH-ul, temperatura, umiditatea și structura solului. Se mai presupune că au un rol în adsorbție (cel puțin în unele soluri) hidroxizi amorfi de siliciu, fier și aluminiu, care au într-adevăr o mare suprafață de adsorbție și o mare capacitate de schimb. Rolul adsorbtiv al acestora este însă limitat de sarcina lor electropozitivă.

Umiditatea solului influențează adsorbția pe suprafața particulelor de sol pe două căi:

— pe de o parte, acționează asupra substanței, pe care o solubilizează. Între adsorbție și solubilizare există un raport invers, cu cît se mărește solubilizarea unei substanțe, scade adsorbția sa;

— pe de altă parte, așa cum am văzut, apa se adsoarbe ea însăși la locusurile active, concurînd substanța fitofarmaceutică (Weleer și colab., 1968). Prezența în apă a unei mici cantități de cationi bivalenți îi sporește eficacitatea.

Rezultă că pe măsură ce un sol este mai umed, el va adsorbi mai puțin intens substanța fitofarmaceutică și, deci, necesită doze mai mici de substanță activă pentru un bun efect fitotehnic.

O altă cale prin care apa stimulează efectul substanțelor fitofarmaceutice aplicate pe sol este mărirea cantității de substanță activă ce pătrunde în plante. Acest fenomen are o importanță deosebită în cazul erbicidelor la care, în funcție de umiditatea solului și de complexul adsorbitiv al acestuia, efectul poate înregistra variații însemnate: de la ineficacitate (în cazul în care solul rămîne uscat în prima lună de la tratare), trecînd prin efect optim, pînă la efecte fitotoxice (la umiditate prea mare). Ulinici și Pascu (1973) au arătat că, în unele cazuri, reducerea dozei de erbicid și folosirea (în prima lună de la tratare) a irigației cu norme mici de udare constituie soluția optimă a acestei probleme complexe.

Adsorbția substanțelor fitofarmaceutice depinde de asemenea de temperatura solului. Mărind solubilitatea și volatilitatea pesticidelor,

Scanned with OKEN Scanner

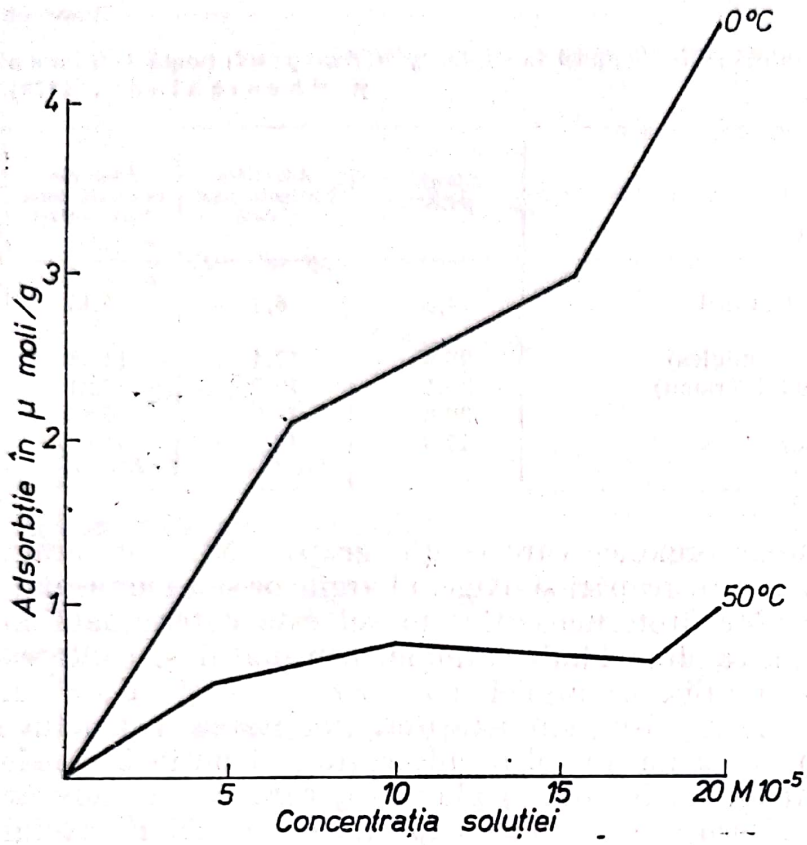


Fig. 45. Adsorbția atrazinului pe bentonită în funcție de concentrația soluției și temperatură (după Harris și Warren, 1964)

temperatura reduce adsorbția pe sol (fig. 45).

Adsorbția substanțelor fitofarmaceutice este influențată de proprietățile solului: pH (Nearpass, 1965; Gilmour și Colleman, 1971), gradul de tasare, proporția de argile, natura mineralogică și saturarea lor cu diferiți cationi (van Bladel și Moreale, 1974).

O serie de substanțe fitofarmaceutice se adsorb la fel de intens pe argile și humus, dar argila joacă rolul principal în fixare, datorită prezenței sale în cantități mult mai mari. Acesta este cazul erbicidelor bipiridilice (Burns și colab., 1973; Szegy și colab., 1973). Datorită vitezei cu care decurge acest fenomen, s-a afirmat uneori (inexact!) că erbicidele bipiridilice nu au remanență.

Pesticidele adsorbite, ca și cationii minerali, intră în reacții de schimb, desorbind, de exemplu, sodiul din complex. Potasiul și calciul, la rîndul lor, pot desorbi bipiridilii de pe argile, cauzînd fenomene de fitotoxicitate chiar la cîțiva ani de la tratamentul aplicat (O'Toole, 1966; Damanakis și colab., 1970; Burns și colab., 1973 etc.). Din acest exemplu, ca și din altele, rezultă o concluzie foarte importantă: *adsorbția substanțelor fitofarmaceutice nu este un fenomen de inactivare, ci de mascare a toxicului; numai descompunerea pînă la compuși simpli (apă, bioxid de carbon etc), care pot fi integrați circuitelor naturale, înlătură complet pericolul potențial al acestor substanțe.*

Factorul care condiționează în cea mai mare măsură adsorbția substanțelor fitofarmaceutice este materia organică din sol. Goring și colab., (1967) citează 40 de lucrări care confirmă că humusul este principalul factor de adsorbție a substanțelor fitofarmaceutice în sol.

Faivre (1969), arătînd că doza de erbicid necesară pentru un bun efect fitotehnic este condiționată de procentul de humus al solului, a elaborat o scară de culori (pornind de la constatarea că și culoarea solului este determinată tot de humus), pe baza căreia 92,5% din fermierii

din S.U.A. și 100% din studenții agronomi au putut aprecia corect doza de erbicid necesară la fiecare tarla în parte.

Bailey și White (1964), Akawa și Howda, (1973) consideră că ori de cîte ori apar neconcordanțe între intensitatea adsorbției substanțelor fitofarmaceutice și cantitatea materiei organice din sol, acest fapt se datorește neglijării diferențelor calitative care există între diferitele tipuri de humus. Horowitz (1971), lucrînd cu două tipuri de humus, provenite de la două tipuri genetice de sol, găsește că unul adsoarbe preferențial prometrinul, iar celălalt linuronul. Este preferabil să se aleagă desigur erbicidul cel mai slab adsorbit. Aceasta este explicația că pe solurile humifere din sudul Franței triazinele se fixează puternic și n-au efect, în timp ce alaclorul dă rezultate foarte bune.

Precursorii vegetali ai humusului — celuloza, ligninele — nu adsorb, sau adsorb în măsură neînsemnată substanțele fitofarmaceutice (Dubach 1968). Puterea lor de adsorbție crește pe măsura humificării. Constituenții humici cei mai polimerizați (acizii humici, humina), cu un procent ridicat de grupări carbonilice și carboxilice (Kononova și Alexandrova, 1973; 1974), au și cea mai mare vechime. Este deci firesc ca solurile cernoziomice, soluri în care vîrsta humusului este cea mai ridicată, să aibă calități adsorbtive superioare (Ghinea și Gheorghiade, 1970; Alexin și Iudina, 1974). Din aceste considerente, pe cernoziomurile levigate și carbonatate sînt necesare doze ridicate de erbicide reziduale (un rol important îl joacă totuși gradul sporit de argilozitate).

Descompunerea microbiană reprezintă principalul factor de inactivare a substanțelor fitofarmaceutice în sol (de Rose și Newman, 1947; Day și colab., 1961 etc.).

Între adsorbția și descompunerea substanțelor fitofarmaceutice în sol există un antagonism foarte strîns. Se știe că adsorbția pe argile, lignine etc., protejează substanțele ușor biodegradabile față de atacul microbian. În cazul substanțelor fitofarmaceutice acest fenomen are o importanță deosebită. S-a demonstrat în cazul insecticidelor organoclorinate (Harris, 1966; Harris și Turner, 1968), că acest fenomen condiționează persistența lor îndelungată în sol. Date similare s-au obținut pentru erbicidele triazinice (Kearney și colab., 1967), ureice (Geissbühler și colab., 1963;; Smith și Meggitt, 1972 etc.), clortiamid (Moyer și colab., 1972). Erbicidele bipiridilice care se adsorb preferențial pe argile, se fixează în spațiul interlamelar al acestora, în care din cauza dimensiunii lor mici, microorganismele nu pot pătrunde (White și Cruz, 1971).

Materialul inert folosit în formulații prezintă o importanță deosebită pentru persistența în mediu a substanțelor fitofarmaceutice. Sacher și colab. (1972) au demonstrat că formularea parationului cu caolinit prezintă mai puține riscuri de poluare decît cea cu cărbune activ, deoarece în primul caz substanța insecticidă este mai slab adsorbită pe suport.

Întrucît substanțele fitofarmaceutice sînt în general insolubile în apă, dar se administrează adesea prin stropiri, ele sînt formulate cu adaos de diferite substanțe care le permit amestecarea cu apa, în care trebuie să dea suspensii stabile. În acest scop se folosesc substanțe ten-

Scanned with OKEN Scanner

sioactive, de obicei detergenţi. Pitblado şi Edrington (1972) au demonstrat că prezenţa substanţelor tensioactive a permis antrenarea cu apă a substanţelor fitofarmaceutice, sporindu-le levigarea. Unele substanţe tensioactive (laurilsulfaţi), care intră în formula de condiţionare a parationului şi diazinonului, măresc considerabil remanenţa acestor insecticide.

În general, substanţele tensioactive sînt printre cele mai recalcitrante la biodegradare. Ele se introduc în sol cu numeroase pesticide, constituind un factor important de poluare. Este necesar ca atunci cînd se are în vedere remanenţa unui preparat fitofarmaceutic să se ţină seama şi de remanenţa substanţelor auxiliare de condiţionare.

O altă categorie de substanţe de care trebuie să se ţină seama atunci cînd se apreciază gradul de periculozitate al unui produs, o constituie substanţele care apar ca impurităţi-tip în produs, aşa cum a demonstrat cazul tragic al 2, 3, 7, 8 tetraclorodibenzo-p-dioxinei (TCDD). Prezenţa TCDD, în cantităţi minime în preparatele erbicide pe bază de 2, 4, 5 T, a produs prin acumulare, un val de malformaţii la copiii nou născuţi şi compromiterea resurselor de hrană într-o regiune relativ mare din Asia (Ton Thant Thung, 1973; Melvin, 1973). Trebuie observat că TCDD este din păcate foarte recalcitrantă la inactivare (Helling şi colab. 1973).

2.4. DESCOMPUNEREA SUBSTANŢELOR FITOFARMACEUTICE

2.4.1. Legile descompunerii substanţelor sintetice; descompunerea detergenţilor şi erbicidelor hormonale

Descompunerea substanţelor fitofarmaceutice se poate realiza prin fenomene foto-chimice (sub acţiunea luminii solare sau, mai adesea, a luminii ultraviolete), prin fenomene chimice sau prin fenomene biochimice (în care factorul biologic intervine direct sau indirect, dar întotdeauna decisiv). Descompunerea reprezintă unicul fenomen prin care substanţele fitofarmaceutice îşi pierd caracterul potenţial nociv, fiind integrate circuitelor naturale.

În general, se poate aprecia că microorganismele din sol reprezintă principalul factor de inactivare a substanţelor pesticide. Cercetări efectuate au arătat că autoclavarea solului sau adaosul de antiseptice opresc aproape complet procesul de descompunere (Brownbridge, 1956; Audus, 1960; Parr şi Smith, 1973).

Iniţial s-a considerat că microflora solului nu poate descompune substanţele fitofarmaceutice, deoarece acestea reprezintă compuşi sintetizaţi de către om, inexistenţi în natură şi, deci microorganismele nu pot avea sisteme enzimatice capabile de a le descompune şi utiliza în metabolismul lor. Audus (1949) a fost cel care a demonstrat netemeinicia acestor păreri, folosind o variantă proprie a tehnicii perfuziei elaborată de Lees şi Quastel (1946). Pe această cale autorul a studiat cinetica dispariţiei din sol a erbicidului 2,4 D. S-a observat că iniţial erbicidul introdus în sol rămîne nedescompus şi numărul microorganismelor

Scanned with OKEN Scanner

nu se schimbă. După o perioadă de timp variabilă, moleculele erbicidului încep a fi descompuse și paralel, asistăm la creșterea numărului de microorganisme. Această cinetică este caracteristică adaptării unei culturi microbiene, la o sursă de hrană care nu-i este proprie.

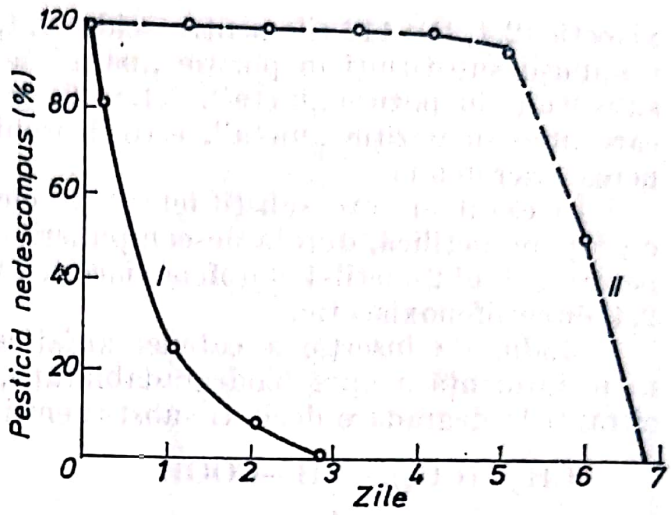


Fig. 46. Descompunerea unui pesticid într-un sol normal (II) și un sol îmbogățit (I) (după Kaufman și Kearney, 1970)

În cazul în care solul este tratat din nou cu 2,4 D (sau un alt compus apropiat ca structură) într-un interval de cîteva luni, erbicidul începe a fi descompus imediat, fără perioada de latență inițială. Audus a denumit acest fenomen „îmbogățirea solului" (enrichement of soil). Cunoașterea acestui fenomen poate ajuta la scurtarea remanenței pesticidelor, prin încorporare prealabilă a unor doze mici de substanță activă, suficiente pentru selectarea microflorei active în acest proces (Hurle și Pfefferkorn, 1972). În figura 46 se dă cinetica descompunerii unui pesticid în solul normal și „îmbogățit".

Apariția unei microflore capabile să descompună pesticidele are loc datorită inducției unor noi enzime la speciile care „pot răspunde" (Cohn și Monod, 1953), printr-un transfer episomal al informației genetice (Waid, 1972).

Pearce (1958) a arătat că procesul de adaptare are loc la celule care nu se divid (în interfază) în cursul perioadei de latență. Acest fapt a fost demonstrat prin percolarea unor coloane de pămînt cu o soluție de 2,4 D și sulfamidă. Sulfamida oprește înmulțirea bacteriilor, fără a provoca însă modificări însemnate în metabolismul lor. Timp de 24 zile, cît perfuzatului i s-a adăugat sulfamidă, nu a avut loc descompunerea erbicidului. S-a spălat apoi sulfamida și s-a adăugat o soluție proaspătă de erbicid. Descompunerea 2,4 D a avut loc în mod obișnuit, dar faza de adaptare s-a scurtat cu 2—3 zile. Repetîndu-se experiența cu sol anterior îmbogățit, descompunerea erbicidului are loc și în prezența sulfamidei.

Legile care determină biodegradabilitatea compușilor de sinteză au fost descoperite de către Huyser (1960), care a lucrat cu detergenți ce conțineau un nucleu ciclizat și o catenă laterală alifatică. Aproape concomitent cu el, Alexander (1961) a lucrat cu erbicidele fenoxiacetice, care conțin și ele un nucleu fenolic și o catenă alifatică. În ambele cazuri, legile inactivării au fost comune. Se va da ca exemplu 2,4 D și erbicidele similare.

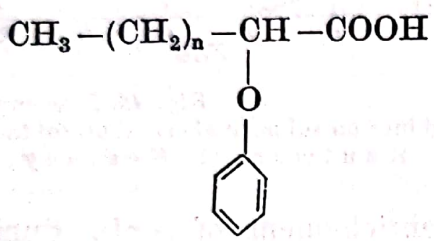
Descompunerea lor are loc prin β-oxidare, iar viteza procesului depinde de numărul și poziția substituenților pe ciclul fenolic: 12 zile pentru acidul 4-clorofenoxiacetic; 16—20 zile pentru acidul diclorofeno-

Scanned with OKEN Scanner

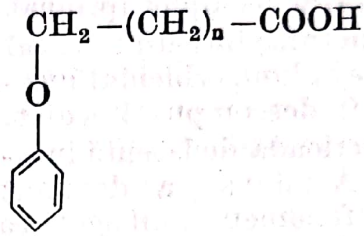
xiacetic (2,4, D); 116 zile pentru acidul 2, 4, 5, triclorofenoxiacetic (2,4,5,T). Compuşii substituiţi în poziţie „para" se descompun mai uşor decît cei substituiţi în poziţia „meta". 2,4,5, T, ce conţine 3 atomi de clor, între care unul în poziţie „meta", este deosebit de recalcitrant la descompunerea microbiană.

În cazul în care substituentul pe ciclu nu este un atom de clor, ci o grupare metilică, durata descompunerii creşte : 16 zile la 2,4 D ; 86 zile pentru acidul 2-metil-4 clorofenoxiacetic (MCPA) şi 102 zile pentru acidul 2,4 dimetilfenoxiacetic.

Modul de inserţie a catenei alifatice la ciclu are, de asemenea, o mare influenţă asupra biodegradabilităţii, α substituenţii fiind mai recalcitranţi la degradare decît ω substituenţii.



α substituenţi



ω substituenţi

Adaptarea microflorei solului la metabolizarea unui pesticid este relativ specifică, în sensul că substanţele fitofarmaceutice cu structuă apropiată sînt şi ele descompuse, dar mai încet decît produsul la care s-a făcut adaptarea.

Cunoaşterea acestui fenomen este de mare interes practic. Spre exemplu, un defect al 2,4,5 T este remanenţa sa prea îndelungată. Pentru a o scurta se recomandă folosirea de amestecuri cu MCPA (care induce şi descompunerea în sol a 2,4,5 T). În acest caz cîştigul este dublu : pe de o parte se înlocuieşte 2,4, 5 T, în parte, cu MCPA (mai uşor biodegradabil), iar pe de alta, prezenţa MCPA în sol grăbeşte însăşi descompunerea 2,4,5 T. Folosindu-se o astfel de soluţie, remanenţa în sol a 2,4, 5 T s-a redus de cinci ori (A u d u s , 1960).

S t e e n s o n şi W a l k e r (1958) au demonstrat că în toate cazurile 2,4 diclorfenolul şi 5 clor-2 crezolul sînt compuşi intermediari în descompunerea 2,4 D şi MCPA. Prezenţa acestor compuşi în mediul de cultură poate induce la unele microorganisme sisteme enzimatice capabile să metabolizeze cele două erbicide menţionate. Explicaţia acestui fenomen se poate da pornind de la teoria „adaptării simultane" (S t a n i e r , 1947), conform căreia într-un complex de dezasimilare o enzimă poate acţiona mai mult decît o treaptă metabolică. Prin urmare, dacă doi compuşi (D şi E) sînt separaţi printr-o singură treaptă enzimatică, atunci este posibil ca enzima ce catalizează reacţia : D→E să funcţioneze în continuare în oxidarea produsului E. În acest caz, cultivarea microorganismului pe un mediu conţinînd produsul E îl va adapta complet la metabolizarea substanţei D. Procesul nu mai este însă posibil dacă cei doi compuşi sînt separaţi de mai multe trepte enzimatice.

Teoria lui S t a n i e r constituie de fapt o previziune genială deoarece, la data apariţiei, genetica nu oferea nici o explicaţie fenomenului

Scanned with OKEN Scanner

descris. Astăzi se știe însă că enzimele care inactivează compușii D și E sînt diferite, dar determinate de un singur operon.

Teoria adaptării simultane oferă o sugestie simplă pentru înțelegerea cauzei datorită căreia microorganismele pot produce enzime necesare descompunerii erbicidelor sintetice din grupa 2,4 D: 2,4 diclorfenolul, care induce aceste enzime, este un metabolit fungic natural (A n d o și colab., 1970).

B a c h (1961), K e a r n e y (1966) A u d u s (1964), au elaborat scheme complete de descompunere a erbicidelor fenoxiacetice, pînă la substanțe deciclizate, utilizate în metabolismul respirator. În toate aceste scheme, esențialul îl constituie, după cum arăta încă Z e n k (1960), apariția unor grupări OH pe ciclul aromatic, grupări ce sînt apoi oxidate la grupări COOH, provocînd ruperea ciclului, după care substanța poate fi inclusă în metabolismul respirator microbian, sau (așa cum arătau în 1969 T i e d j i e și A l e x a n d e r), poate servi la sinteza pro-

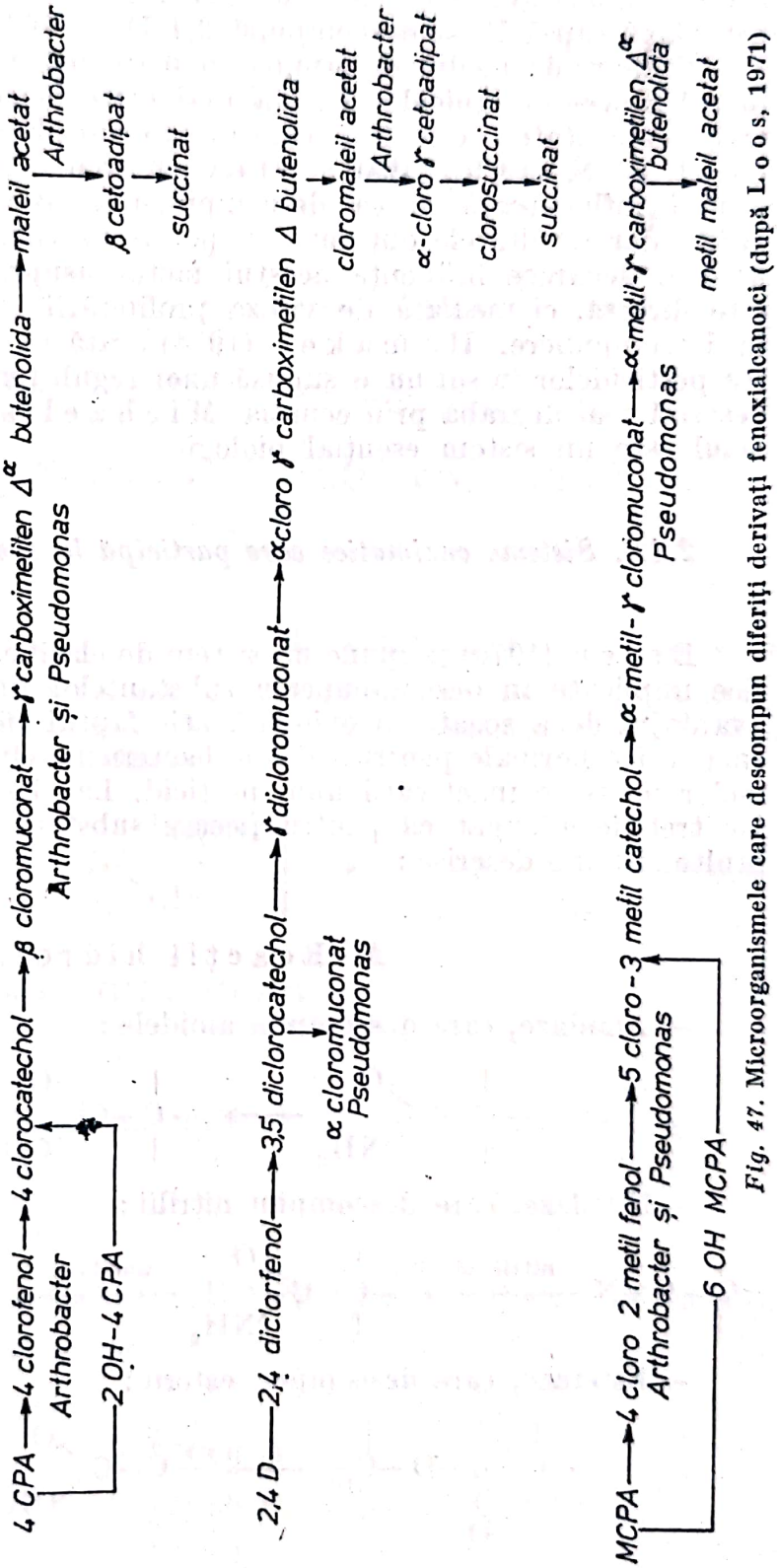


Fig. 47. Microorganismele care descompun diferiți derivați fenoxialcanoici (după L o o s, 1971)

teică. În figura 47 se dă, după Loos (1971), o schemă mult simplificată a descompunerii acestor substanţe, care are avantajul de a aduce în primul plan complexitatea microflorei ce participă la descompunerea în sol a acestor substanţe. Skriabin şi colab. (1974) găsesc şi ei o microfloră complexă capabilă să descompună 2,4 D şi MCPA.

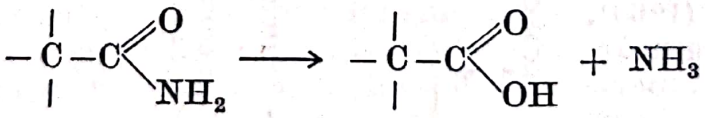
Factorii de mediu determină în mare măsură viteza descompunerii în sol a acestor erbicide. În cea mai mare măsură influenţează umiditatea, capacitatea de schimb, cantitatea de argilă şi humus din sol (Mitchel şi Marth, 1946; Stevenson, 1973 etc.). Temperatura solului influenţează şi ea descompunerea (Brown şi Mitchel, 1948), dar rezultatele obţinute nu pot fi exprimate în termeni termodinamici, deoarece influenţa acestui factor asupra vitezei inactivării nu este directă, ci mediată de viteza proliferării microorganismelor active în descompunere. Hamaker (1974) arată că în general descompunerea pesticidelor în sol nu e supusă unor reguli termodinamice, ci poate fi descrisă mai degrabă prin ecuaţia Michaelis-Menton, deoarece solul este un sistem esenţial biologic.

2.4.2. Sisteme enzimatice care participă la descompunerea substanţelor fitofarmaceutice

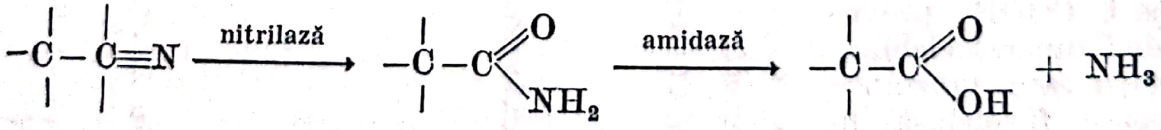
Esser (1970) propune un sistem de clasificare a reacţiilor enzimatice implicate în descompunerea substanţelor fitofarmaceutice care are avantajul de a scoate în evidenţă atît faptul că este vorba de sisteme enzimatice normale pentru celulele bacteriene, cît şi complexitatea sistemelor necesare inactivării unui pesticid. La clasificarea prezentată mai jos trebuie adăugat că pentru fiecare substanţă intervin succesiv mai multe sisteme descrise:

A. Reacţii hidrolitice produse de:

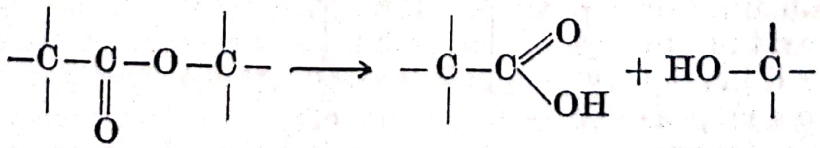
— Amidaze, care descompun amidele:



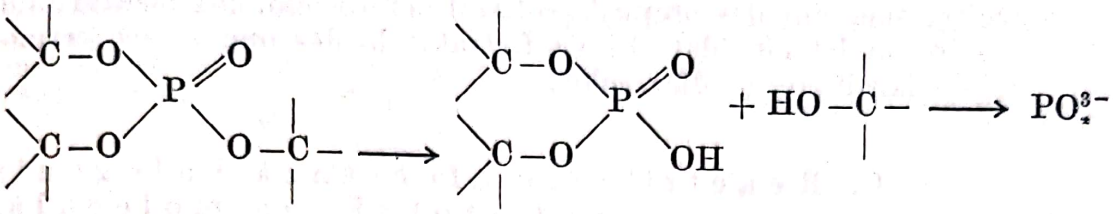
— Nitrilaze, care descompun nitrilii:



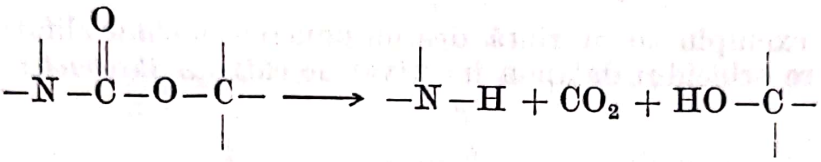
— Esteraze, care descompun esterii:



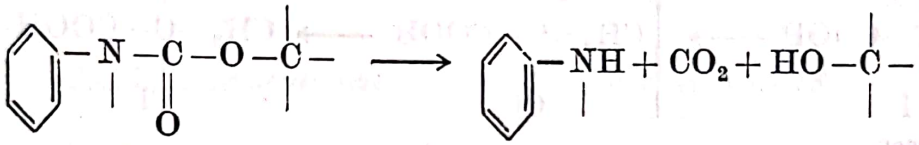
Printre acestea se disting fosfatazele, care descompun esterii fosfatici :



— Sistemul enzimatic care descompune alchilcarbamații:



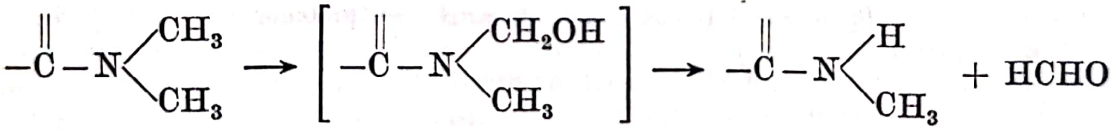
— Sistemul enzimatic care descompune arilcarbamații :

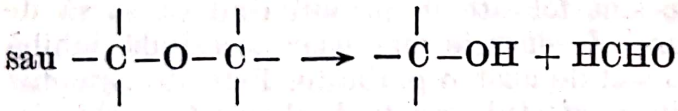


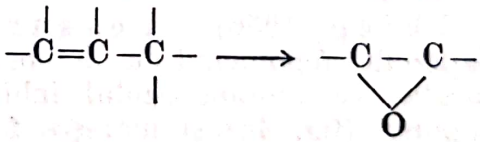
B. Reacții oxidative

Dintre acestea s-a descris anterior β oxidarea acizilor fenoxi-acetici.

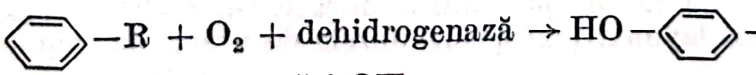
Numeroase pesticide au în moleculă catene laterale, care sînt desalchilate prin oxigenaze nespecifice :

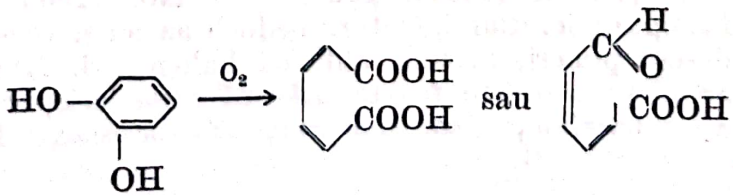


sau 

Prin oxidare se desfac duble legături : 

se hidrolizează inele aromatice :

 —R + O_2 + dehidrogenază → HO— —R + H_2O, care după ce primesc două grupări OH se rup :

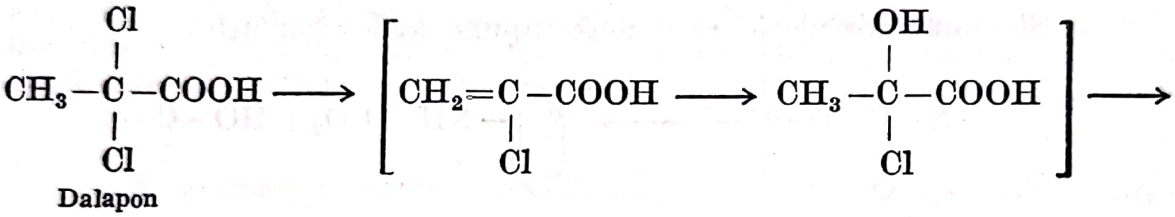


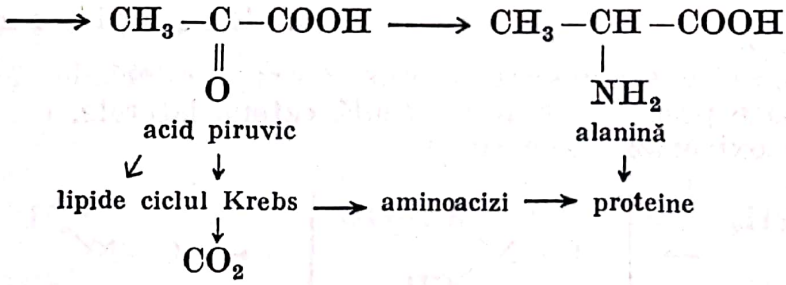
Acest tip de reacţie este implicat în deciclizarea acizilor fenoxiacetici.

În acelaşi mod sînt descompuşi probabil heterociclii, dar mecanismul acesta este incomplet elucidat. El va fi tratat la descompunerea triazinelor, aminotriazolului, şi diazinelor.

C. Reacţii care afectează halogenii sau azotul din moleculă. Descompunerea acizilor alifatici halogenaţi

Ca exemplu se prezintă descompunerea acizilor alifatici halogenaţi, între care erbicidul dalapon inactivat de către *Arthrobacter* (Kearney, 1966):





Deoarece aceste substanţe sînt folosite în primul rînd ca sursă de energie, prezenţa unei alte surse de energie mai uşor accesibilă inhibă descompunerea, în timp ce adaosul de azot o grăbeşte. Este de aşteptat ca îngrăşarea cu azot să reducă efectul rezidual al acestor erbicide.

Thieg (1956) şi Leasure (1964) au pus în evidenţă şi în cazul dalaponului fenomenul de „îmbogăţire" a solului. Kaufman (1963) a arătat că aminotriazolul inhibă microorganismele care descompun dalaponul (fig. 48) şi măreşte foarte mult remanenţa acestui erbicid. Fenomenul, important pentru practică, dat fiind că cele două erbicide se folosesc adesea asociate, nu are loc pe solurile în care s-a realizat deja îmbogăţirea în raport cu dalaponul (exceptînd dozele de peste 50 ppm, practic neinteresante).

Ogle şi Warren (1954), Day şi colab. (1963) au stabilit că, influenţînd asupra microflorei, factorii pedoclimatici şi vegetaţia determină viteza descompunerii acizilor alifatici halogenaţi. Microflora care participă la acest proces este foarte diferită (*Nocardia*, *Pseudomonas*, *Mycoplana*, *Agrobacterium*, *Achromobacter*, *Micrococcus*, *Trichoderma*, *Clonostachys*).

Scanned with OKEN Scanner

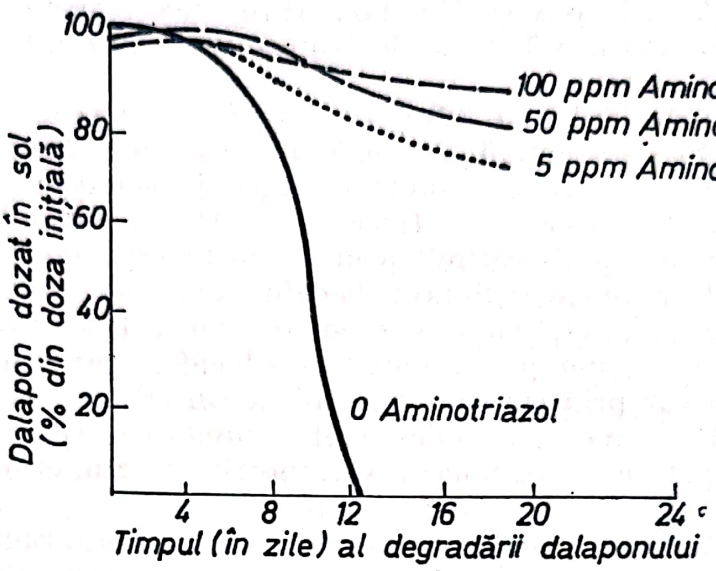


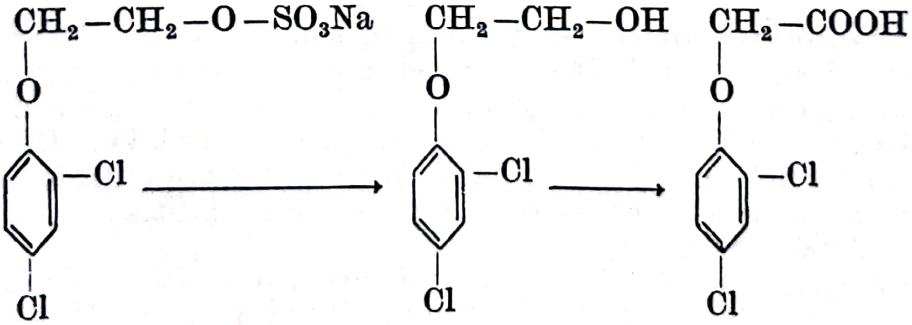
Fig. 48. Efectul diferitelor concentrații de aminotriazol asupra descompunerii microbiene a dalaponului în sol (după K a u f m a n, 1963)

2.4.3. Activarea substanțelor fitofarmaceutice de către microfloră

În mod curent se presupune că prin metabolizarea unor compuși activi din punct de vedere biologic se obțin compuși lipsiți de activitate sau, în orice caz, mai puțin activi decît compusul de la care s-a pornit inițial. Totuși se știe de mult timp că substanța 2,4 D.B, inactivă biologic, poate fi folosită ca erbicid pentru că prin β oxidare plantele sau microflora solului o transformă în 2,4 D. Acest fenomen, denumit activare, era însă privit ca o excepție.

Faptele ce s-au acumulat ne constrîng să admitem că acest fenomen este mult mai frecvent și că, de fapt, este tot atît de posibil ca prin metabolizare o substanță fitofarmaceutică să fie inactivată sau activată. Pentru a ilustra aceasta ne vom referi la cîteva exemple:

— produsul Seson nu este erbicid (aplicat pe frunze nu are efect). În sol el este însă transformat în 2,4 diclorofenoxietanol și 2,4 D (în solurile cu pH sub 4,0 el este descompus pe cale nebiologică, fără formarea 2,4 D). Iată desfășurarea acestui proces după V l i t o s (1953):



— Produsul clortiamid (Prefix) de asemenea nu este erbicid; în sol este însă activat printr-o rapidă metabolizare la diclobenil (C a s o r o n), ulterior avînd loc și inactivarea acestuia (B e y n o n și W r i g h t,

1968; Verloop şi Nimo, 1970). Acest proces enzimatic de ordinul I este puternic influenţat de temperatură (Montgomery şi colab., 1972).

— Erbicidul 2,3,6 TBA este transformat de către microfloră în cloramben (substanţa activă a erbicidului Amiben). Agenţii cei mai activi în descompunerea acestor substanţe aparţin genurilor *Arthrobacter* şi *Pseudomonas* (Jensen şi Larsen, 1967), capabile să realizeze şi un fenomen de „îmbogăţire" pentru aceste erbicide.

—Toluidinele (trifluralin, benefin, A 820) sînt descompuse prin reducere sau desalchilare (Probst şi colab., 1967; Kearney şi colab., 1972), metaboliţii avînd şi ei proprietăţi erbicide. Derivatul ureic fenobenzuron este activat prin transformare în diuron (Fournier şi colab., 1973).

—De asemenea prin desalchilare produsele triazinice clorazin şi ipazin sînt transformate în simazin şi respectiv atrazin, erbicide mult mai active decît produsele din care provin.

Activarea se poate uneori referi la microfloră. Spre exemplu, produsul DNOC nu este în sine activ asupra microflorei solului, dar metaboliţii săi inhibă puternic activitatea microbiană a solului. Faptul cel mai alarmant este acela că *prin activare, substanţele fitofarmaceutice pot deveni mai toxice pentru om şi mamifere.* Astfel, insecticidul paration (oricum foarte toxic) este transformat de enzimele micro-şi macroorganismelor în paraoxon (încă mai toxic pentru om şi mamifere). Procesul, care va fi descris mai pe larg în cele ce urmează, este caracteristic întregii clase a insecticidelor organofosforice. De asemenea, insecticidele carbamice devin mai stabile după o oxidare parţială.

Uneori efectul de activare este atît de puternic, încît studiile de metabolism au avut ca urmare faptul că metabolitul obţinut pe această cale a fost formulat ca un nou produs comercial (cazul insecticidelor forat, Keltan). Studiul de metabolism al pesticidelor rămîne însă în continuare important, în primul rînd pentru protecţia mediului. În ţările avansate, nici un produs nu este autorizat înainte de a i se cunoaşte toţi metaboliţii.

2.4.4. Descompunerea erbicidelor fenilamidice

a. **Substituenţii ureici** se descompun lent în sol, cu diferenţe mari de la un erbicid la altul. Descompunerea microbiană este în funcţie de echilibrul adsorbţie-desorbţie, şi de temperatură (Mc Cormick şi Hiltbold, 1966; Spiridonov şi Kamenskii, 1971). Conţinutul solului în humus şi încorporarea de îngrăşăminte organice grăbeşte descompunerea acestor erbicide şi le reduce efectul fitotoxic (Dubey şi colab., 1966; Savage, 1973).

Descompunerea microbiană a substituenţilor ureici este influenţată favorabil de prezenţa factorilor de creştere (Hill şi colab., 1955).

Hill (1956); Lopez şi Kirkwood (1972) au găsit numeroase microorganisme (*Xanthomonas, Pseudomonas, Bacillus, Penicillium, Aspergillus, Fusarium*), care pot folosi în metabolism substituenţi ureici. În sol are loc un fenomen de „îmbogăţire" faţă de aceste erbicide.

Scanned with OKEN Scanner

Wallnöffer (1969) a arătat că două bacterii au o puternică acțiune sinergică în descompunerea monolinuronului (*Bacillus sphaericus* și *Micrococcus caudatus*), asociația celor două specii fiind mult mai activă decît culturile lor pure. Bordeleau și Bartha (1971) au constatat o situație similară în descompunerea erbicidului propanil (din grupa acilanilidelor) de către ciupercile *Penicillium piscarium* și *Geotrichum candidum*.

Deși aceste erbicide sînt înrudite cu ureea, ele nu pot fi hidrolizate de către urează (Sumner și Somers, 1953; Wallnöffer, 1969).

S-au obținut din *Bacillus sphaericus*, *Pseudomonas striata* și *Fusarium solanii* trei enzime „probabil identice". (Engelhardt și colab., 1971), toate descompunînd erbicidele carbamice, erbicidele fenilureice metoxi substituite și unele fungicide derivate ale anilinei, precum și conjugații 4-nitroanilidei cu unii aminoacizi. Erbicidele dimetilfenilureice nu sînt descompuse. Specificitatea de substrat a enzimelor sugerează că ele desfac legătura peptidică între grupul carboxi și partea anilinică. Geissbühler și Voss (1971) consideră că descompunerea erbicidelor ureice cuprinde două stadii principale : introducerea în moleculă a unor grupări relativ polare și conjugarea metaboliților astfel obținuți cu constituenți naturali ai celulei vegetale, microbiene sau animale. Prima fază cuprinde demetilarea sau demetoxilarea, hidroxilarea (fie a erbicidului ca atare, fie a produșilor de desalchilare) și în final — formarea anilinei (etapă cheie din punctul de vedere al reziduurilor). Etapa a doua este considerată de autori ca „esențială, dar încă incomplet elucidată".

b. Descompunerea carbamaților și formarea azobenzenilor și problema reziduurilor hibride. Carbamații sînt substanțe apropiate ca structură de substituenții ureici a căror descompunere este cu atît mai lentă cu cît sînt mai acizi.

Microorganismele cele mai active în descompunerea acestor erbicide aparțin genurilor *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Fusarium* și *Geotrichum*.

În solurile tratate cu erbicide carbamice se observă fenomenul de îmbogățire a solului (Kaufman și Kearney, 1965).

Așa cum s-a arătat, din microorganismele solului s-au obținut preparate enzimatice purificate, care descompun carbamații. Enzima (o esteramidază), obținută de Kearney și Kaufman (1965) și Kearney (1967) din *P. striata*, descompune CIPC la 3-cloranilină, alcool izopropilic și bioxid de carbon.

Burge (1972) a obținut enzima prin extracție directă din sol. Wright și Forey (1972) au demonstrat că ea este asociată peretelui celular al ciupercilor din sol. În legătură cu descompunerea carbamaților apar două aspecte mai puțin clare :

— Anilinele sînt relativ stabile și dotate cu remarcabile proprietăți antimicrobiene (Bartha, 1968). Printre microorganismele sensibile sînt și cele care descompun aceste erbicide, ceea ce a ridicat serioase probleme în legătură cu remanența lor din sol. Kearney și colab. (1967), Clark și Wright (1970) au rezolvat aceste probleme arătînd că derivații anilinici se formează în sol în cantități mici și se inactivează continuu.

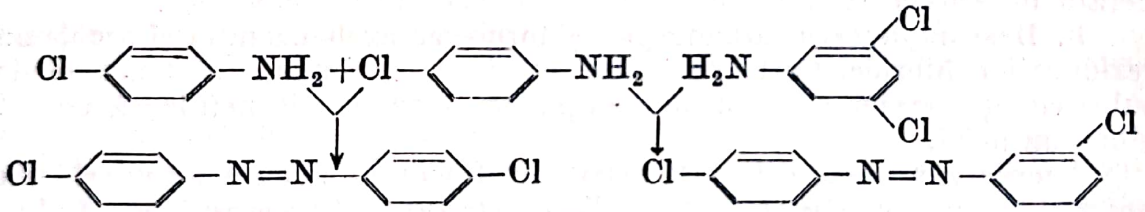
Scanned with OKEN Scanner

— Descompunerea anilidelor nu duce la compuşi simpli. Bartha şi Pramer (1967) şi apoi Bartha (1970) au demonstrat că aceste substanţe condensează producînd azobenzeni. Acest proces nu necesită celule microbiene vii, ci poate fi realizat de peroxidaza acumulată anterior în sol (Bartha şi Bordeleau, 1969). Posibilitatea acestui proces a fost prevăzută încă din 1953 de Danielis şi Saunders.

În cazul în care în sol există un singur fel de derivat anilinic, ca urmare a descompunerii unui singur fel de pesticid carbamic, în sol se vor forma azobenzeni simetrici (spre exemplu din 3,4 dicloranilină se formează 3,3,4,4, tetraclorobenzen (Bordeleau şi Bartha, 1970).

Formarea azobenzenilor, pornind de la pesticide fenilaminice este specifică solului. Ea nu poate avea loc în plantă, fapt extrem de important pentru toxicologia produselor agricole, deoarece aceste substanţe sînt foarte dăunătoare pentru sănătate. Absorbţia radiculară a azobenzenilor poate avea loc numai în cazul în care ei ating concentraţii prea mari pentru a mai interesa din punct de vedere practic (Mayer-Bode, 1971).

În cazul (frecvent) în care în sol se întîlnesc mai multe fenilamide, ca urmare a descompunerii lor, pot lua naştere mai multe cloroaniline diferite. În continuare acestea vor reacţiona între ele producînd aşa-numitele „reziduuri hibride", complexe stabile şi asimetrice, a căror prezenţă trebuie cu mare grijă evitată (Kaufman, 1971). În schema de mai jos se redau ambele situaţii:



Produs simetric — Reziduu hibrid

În practică se utilizează adesea amestecuri de erbicide ureice şi carbamice. Un astfel de amestec (între ciclouron şi clorbufam) este erbicidul Alipur. Drescher şi Roth (1965) au arătat că cele două componente se descompun în sol, cvasisimultan (fig. 49), ceea ce creează condiţii optime pentru apariţia reziduurilor hibride.

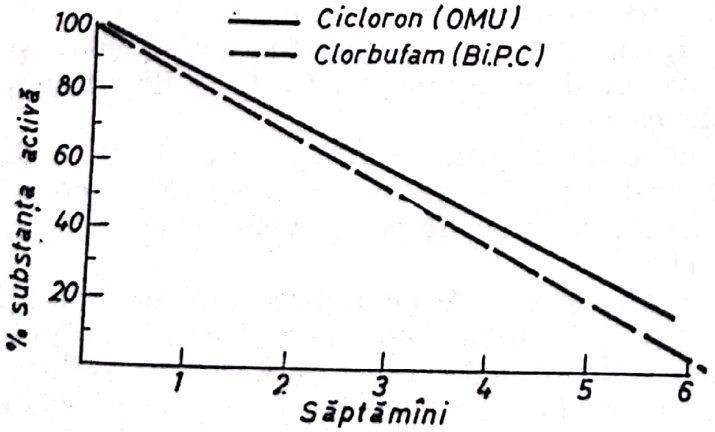


Fig. 49. Descompunerea în sol a erbicidului mixt Alipur (amestec de ciclouron şi clorbufam) — după Drescher şi Roth, 1965)

c. Descompunerea acilanilidelor şi sinergismul pesticidelor. Acilanilidele sînt erbicide cu structură chimică asemănătoare derivaţilor fenilureici şi fenilcarbamici. Dintre sub-

stanțele aparținînd acestei grupe, cel mai bine este cunoscută inactivarea propanilului (DCPA, comercializată ca erbicid pentru orez sub numele de Stam F 34, Rogue, Surcopur). În plantele de orez erbicidul este descompus sub acțiunea unei arilacilamidaze specifice pînă la 3,4 dicloranilină și acid propionic. Enzima, prezentă și la microorganismele solului, poate fi complet blocată de insecticidele carbamice (spre exemplu carbaryl) și, parțial, de cele organo-fosforice (tab. 43). Fungicidul N (fenil-p-toluen sulfoanilidă) are o acțiune asemănătoare; blocarea descompunerii durează 20—60 zile.

Tabelul 43

Efectul Carbarylului asupra remanenței CIPC (după Kaufman și colab., 1971)

Tratamentul (kg/ha)	Greutatea proaspătă a plantulelor de ovăz în % din greutatea plantulelor martor recoltate concomitent			
	La tratare	După 4 zile	După 16 zile	După 64 zile
CIPC 11,2	38,3	55,2	99,1	106,9
Carbaryl 2,2	72,2	95,7	101,5	106,3
Carbaryl 2,2+ CIPC 11,2	9,5	14,4	19,5	65,8

În sol se pot întîlni în aceeași perioadă de vegetație erbicide, insecticide, nematocide, fungicide, precum și metaboliții lor. Nash, în 1967 arată, spre exemplu, că la cultura bumbacului erau omologate în acea vreme 50 de pesticide în S.U.A. Dacă se consideră că în același sezon de vegetație cultura suferă numai două tratamente, se obțin 1225 de combinații posibile. Considerînd 3 tratamente (în realitate sînt mai multe de obicei), numărul combinațiilor se ridică la 19 600. Fiecare substanță este, firește, temeinic cunoscută, dar efectul combinațiilor n-a fost niciodată studiat și este realmente impredictibil.

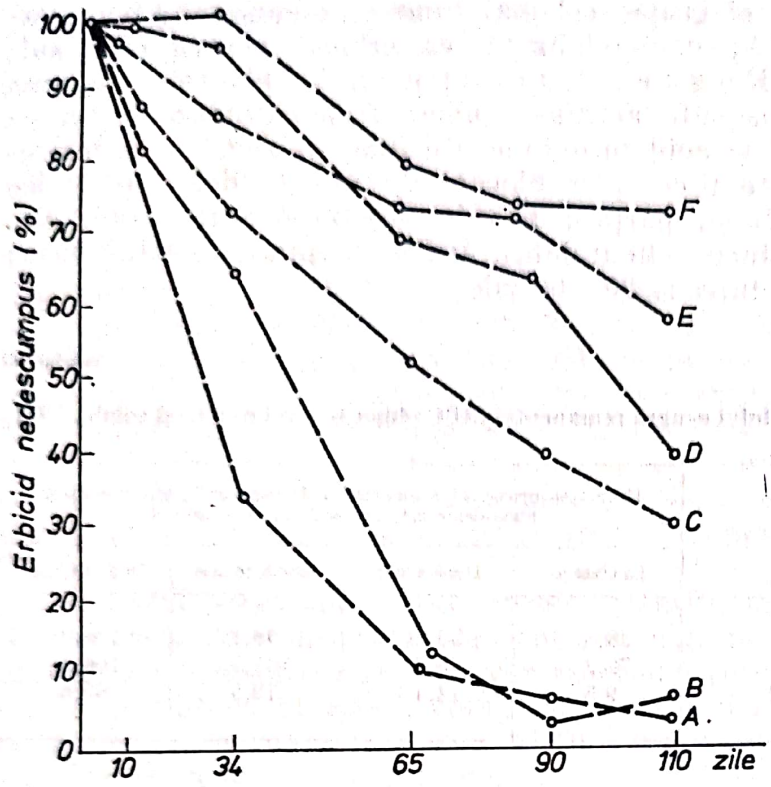
Această problemă, tulburătoare pentru protecția mediului ambiant, s-a pus totuși de-abia după ce s-a înregistrat compromiterea unor suprafețe importante de orezării, datorită folosirii simultane a propanilului și a unor insecticide carbamice sau organofosforice, în urma blocării în plantele de orez a enzimei specifice ce inactivează erbicidul.

e. **Descompunerea amidelor.** Difenamidul (substanță activă a erbicidului Dymid) poate fi metabolizat în sol de diverse microorganisme (*Penicillium frequentans*, *P. citreoviridae*, *Aspergillus terreus*, *Cladosporium* sp., *Alternaria tennuis*, *Agrobacterium radiobacter*, *Pseudomonas* sp., *Bacillus megaterium*, diferite actinomicete), care-l folosesc ca sursă de de energie și mai ales de azot (Mickowski, 1970).

Ciupercile din rizosfera tomatelor descompun intens difenamidul, asigurînd astfel rezistența tomatelor la acest erbicid, față de care nu sînt tolerante în culturi sterile (Fang, 1971).

Propizamidul (substanța activă a erbicidului Kerb) este inactivat biologic cu o intensitate ce depinde de temperatură și textura solului

Scanned with OKEN Scanner



Tipul de sol	A Luto-argilos	B Lutos	C Luto-argilo nisipos	D Argilo-nisipos	E Argilos	F Nisipos
pH	7,8	6,9	8,3	7,7	8,1	7,2
C.E.C.	16,75	10,75	13,1	9,7	21,75	3,95
Humus %	2,5	1,8	2,6	0,8	1,24	0,73
Nisip %	20,0	32,0	64,0	62,0	26,0	92,0
Argilă %	36,0	24,0	32,0	12,0	54,0	2,0

Fig. 50. Decompunerea în sol a propizamidei (după informaţii tehnice R o h m H a a s)

(fig. 50 şi 51). K a u f m a n şi B l a k e (1973) au găsit că în mod curent, acelaş microorganism poate descompune fenilamide foarte diferite. Astfel bacteriile *Pseudomonas striata* şi *Achromobacter* sp. pot descompune diuronul, DMU, fenuronul, profamul, clorprofamul, cicloatul, CDAA, CDEC, propanilul, dicrylul, solanul, sweepul şi propaclorul. Similar s-au comportat ciupercile : *Aspergillus ustus*, *A. versicolor*, *Penicillium chrysogenum*, *P. janthinellum*, *P. rugulosum*, *Fusarium oxysporum*, *F. solani* şi *Trichoderma viridae*.

2.4.5. *Descompunerea erbicidelor heterociclice*

a. **Aminotriazolul.** Remanenţa în sol a aminotriazolului este extrem de importantă deoarece produsul fiind cunoscut drept cancerigen, prezenţa reziduurilor în părţile consumabile ale plantelor este total interzisă. Astăzi se ştie că prezenţa reziduurilor în fructe depinde exclusiv de viteza dispariţiei substanţei active din sol. Din păcate însă, remanenţa aminotriazolului este extrem de variabilă. D a y şi colab., (1961) dozează la două săptămîni după tratare 0—94% din erbicid. Din acest motiv produsele pe bază de aminotriazol (Weedazol, Amitrol) sau de amestecuri (de tip Saminol) nu sînt sigure şi ţările cu agricultură avansată au luat măsuri de limitarea lor. Astfel în S.U.A. s-a interzis utilizarea acestor erbicide pe terenurile agricole, iar în Europa Occidentală aplicarea lor

Scanned with OKEN Scanner

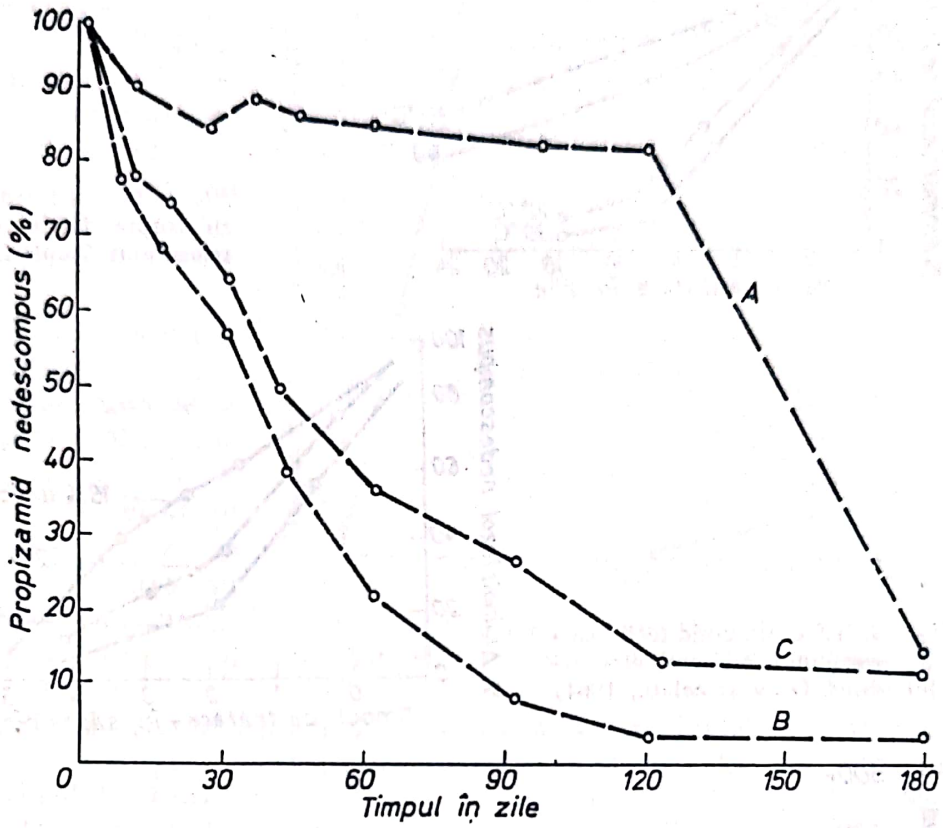


Fig. 51. Influența temperaturii și umidității asupra descompunerii propizamidei (după informații tehnice R o h m H a a s)

în livezi și vie este posibilă numai în intervalul de la recoltare pînă la pornirea vegetației.

Descompunerea microbiană este principalul factor de inactivare (K e a r n e y și colab. 1967), fapt pus în evidență încă de B o n d a r e n k o (1958), care a arătat că din aminotriazol marcat se produce $^{14}CO_2$, dar numai în sol nesteril.

Viteza descompunerii aminotriazolului depinde de temperatură (fig. 52) și umiditate (fig. 53). Ea variază în funcție de pH-ul solului (fig. 54) și conținutul acestuia în humus (fig. 55). Descompunerea erbicidului este mai rapidă în solurile cu textură fină.

Ca rezultat al acestor cercetări, s-a stabilit că remanența aminotriazolului este mai mare în solurile continuu reci și umede (în care caz s-au semnalat reziduuri în afinele tratate, ceea ce a dus la distrugerea recoltei și interzicerea erbicidului în S.U.A.) sau continuu calde și uscate (ceea ce a determinat apariția de simptome de fitotoxicitate în livezele tratate).

Cercetările întreprinse începînd din 1958 au pus în mod constant în evidență rolul factorului microbian în descompunerea aminotriazolului. Totuși izolarea „in vitro" a microorganismelor capabile să realizeze acest proces nu a reușit (A s h t o n , 1963). P l i m m e r și colab. (1967) au demonstrat că microorganismele intervin indirect prin producerea de

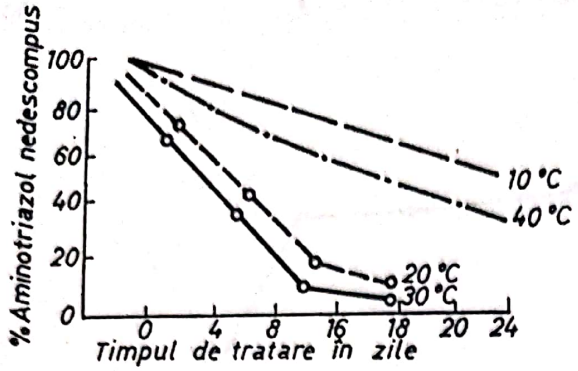


Fig. 52. Efectul temperaturii asupra descompunerii aminotriazolului (după D a y şi colab., 1961)

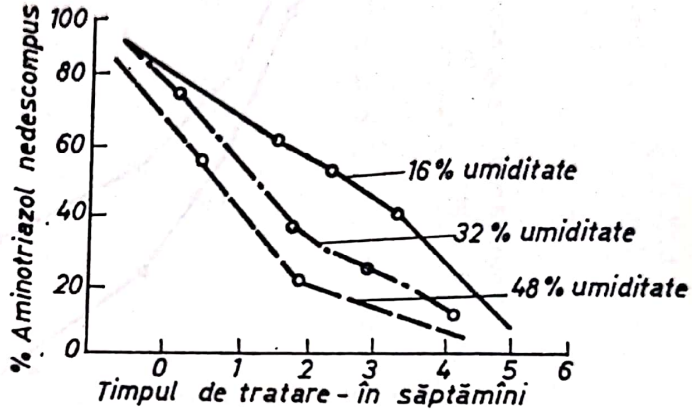


Fig. 53. Efectul umidităţii asupra descompunerii aminotriazolului (după D a y şi colab., 1961)

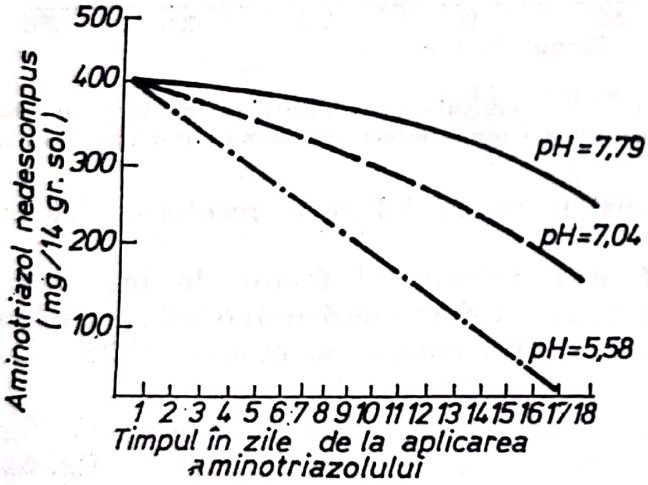


Fig. 54. Efectul pH-ului solului asupra descompunerii aminotriazolului (după R i e p m a, 1962)

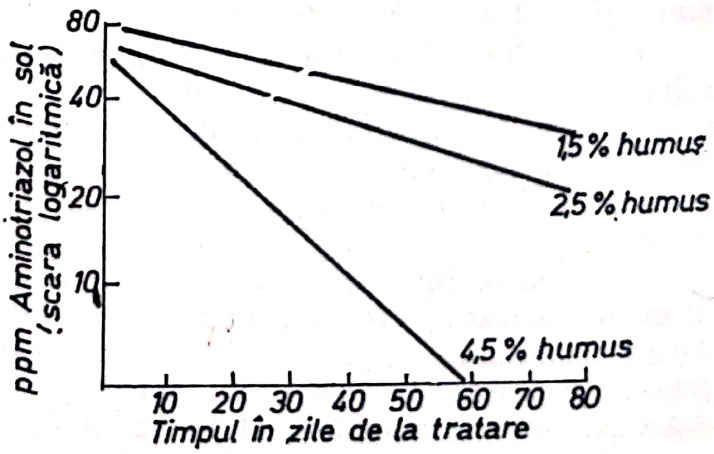


Fig. 55. Influenţa conţinutului în humus al solului asupra descompunerii aminotriazolului (după R i e p m a, 1962)

Scanned with OKEN Scanner

radicali liberi care inactivează aminotriazolul. Concordanța dintre activitatea microbiană și intensitatea descompunerii se explică prin faptul că producerea de radicali liberi este o funcție a activității microbiene din sol.

Metabolizarea aminotriazolului în sol și plante duce la formarea unor substanțe complexe (Massini, 1959; Herret și Bagley, 1964 etc.) în care intră aminoacizi și aminoglucide. Acestea au o mare recalcitranță moleculară (Frederick și Gentile, 1959).

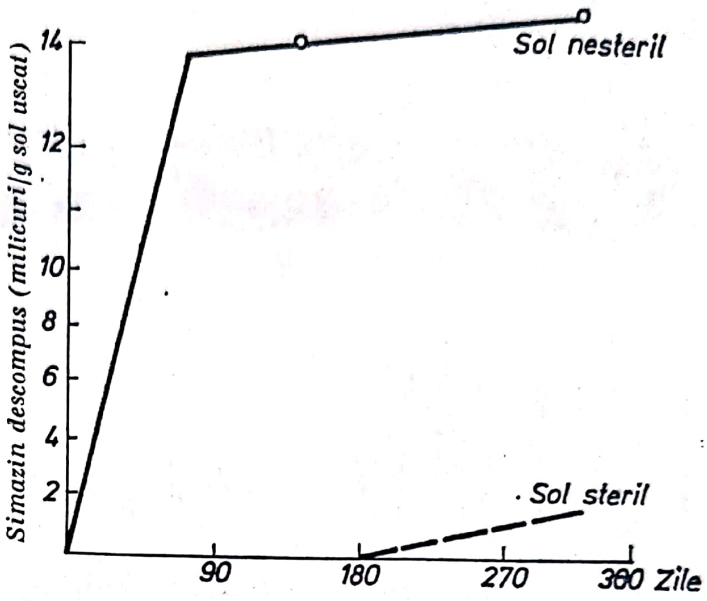


Fig. 56. Descompunerea simazinului marcat de către microflora solului (după Ragab și Collum, 1961)

b. **Triazinele.** Descompunerea microbiană a triazinelor a fost pusă în evidență la compuși nefitotoxici înaintea utilizării lor ca erbicide (Scholl și colab., 1937; Konishi și Yamanishi, 1940) în legătură cu posibilitatea folosirii lor ca îngrășăminte greu solubile cu azot. Ulterior s-a arătat (Ragab și Mc Collum, 1961) că erbicidele aminotriazinice sînt descompuse numai în solul nesteril, nu și în cel steril (fig. 56). Walgenbreth și Kluge (1971) au arătat că unele pesticide care inhibă microflora (vapam, tiram) prelungesc efectul rezidual al triazinelor.

Printre microorganismele care participă la descompunerea triazinelor, cele mai active sînt ciupercile (Pochon și Charpentier 1960; Ghinea, 1964; Săvulescu și Bănescu, 1963; Micev și Bubalov, 1972), dar la acest proces participă și bacterii (Charpentier și Pochon, 1962; Ghinea, 1966; Voinova și Bakalivanov, 1970). Bryant (1963) observă specializarea florei bacteriene în solurile tratate; triazinele etilaminosubstituite (tip atrazin) determinînd proliferarea în sol a bacteriilor din genul *Arthrobacter*; triazine dietilaminosubstituite (tip simazin) a bacteriei *Pseudomonas*; iar triazinele izopropilaminosubstituite (tip propazin) a ambelor genuri.

Aupalov (1974) a găsit că încorporarea de doze mari de erbicide trizinice în sol are drept urmare inactivarea lor mai rapidă, decît în cazul folosirii dozelor mici.

Această observație a readus în actualitate constatarea mai veche a lui Duke (1964), conform căreia înmulțirea unei microflore active în descompunerea triazinelor reduce considerabil efectul remanent al acestora în solurile tratate.

Microorganismele folosesc în metabolism triazinele, ca sursă de azot. Specia *Penicillium frequentans* (dominantă în cernoziomurile mediu levigate din sud-estul României), care descompune foarte rapid triazinele, este

Scanned with OKEN Scanner

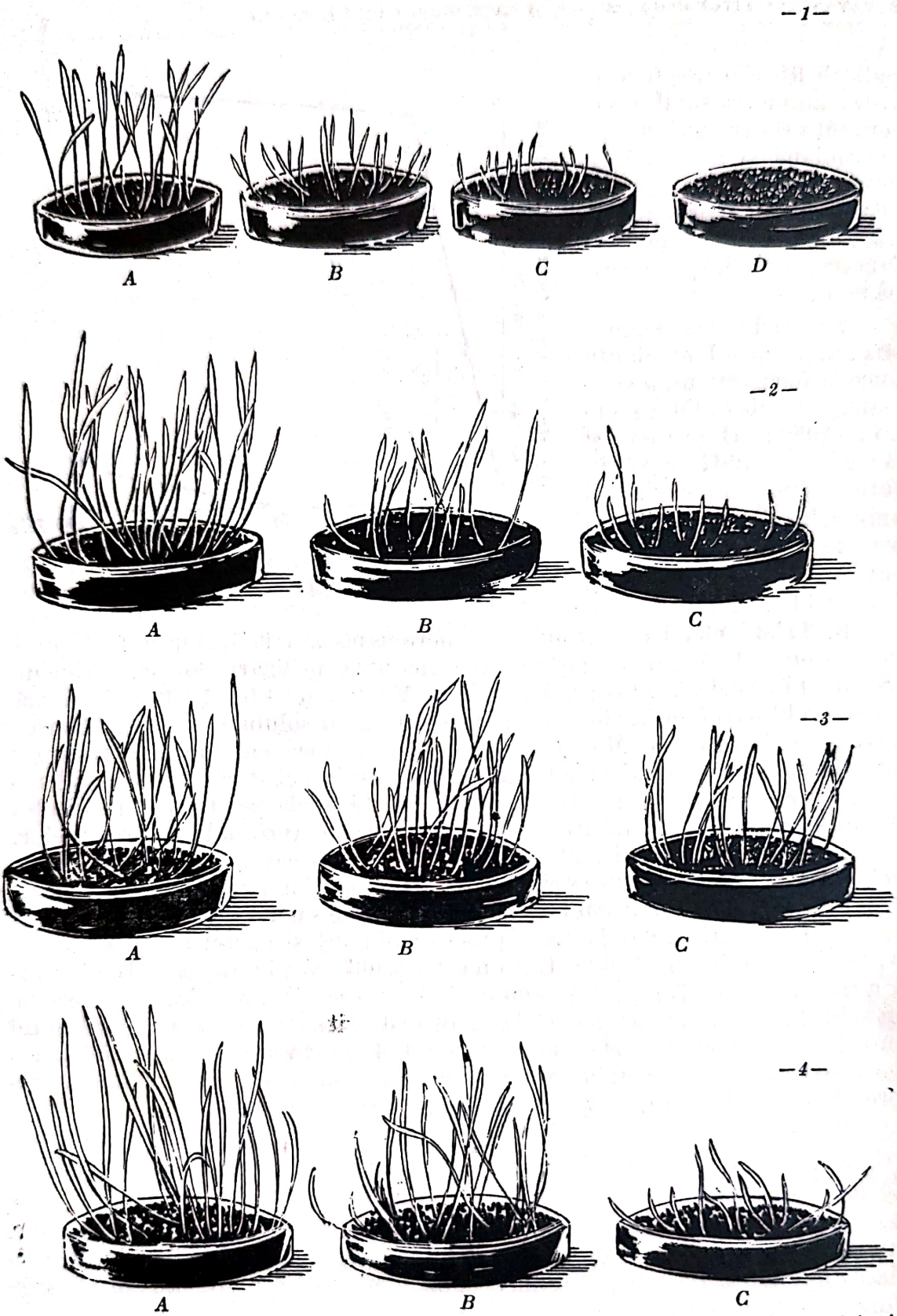


Fig.57. Capacitatea unor ciuperci de a detoxifica triazinele (după Mickowski şi Verona, 1968)

1. Sol steril: *A.* Martor; *B.* Simazin 0,5%; *C.* Atrazin 0,5%; *D.* Prometrin 0,5%
2. Sol + *Penicillium purpurogenum*; *3.* Sol steril + *Penicillium frequentans*. *4.* Sol + *Trichoderma viride*: *A.* Simazin 0,5%; *B.* Atrazin 0,5%; *C.* Prometrin 0,5%

Scanned with OKEN Scanner

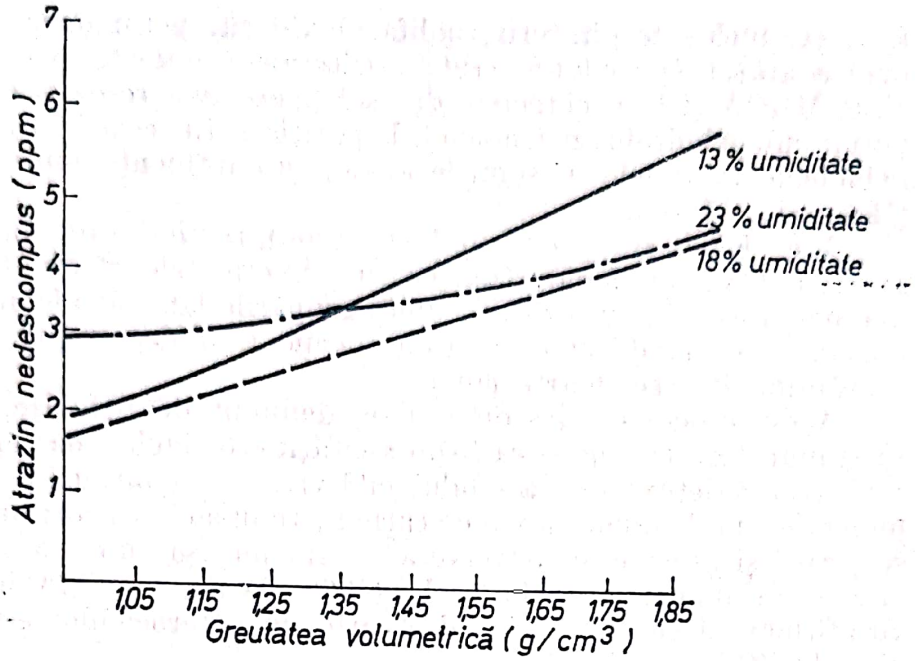


Fig. 58. Cantitatea de atrazin rămasă nedescompusă într-un sol cernoziom mediu levigat, în funcție de greutatea volumetrică la diferite nivele de umiditate (după Ghinea și colab., 1966)

capabilă a folosi aceste erbicide și ca sursă de energie (Ghinea, 1965). Mikowski și Verona (1968) au confirmat capacitatea deosebită a *P. frequentans* de a detoxifica triazinele (fig. 57).

Proprietățile fizice ale solului reglează intensitatea metabolizării triazinelor. Ghinea și colab. (1966) au arătat că procesul încetează la umidități mai mici de 10% și au găsit relații foarte strînse cu aerația solului. Ca urmare, descompunerea este mai slabă în solul tasat de tractor (Bailly, 1971 — intervenție la Conferința Columa) și în stratul subarabil (Roeth și colab., 1969). Lavy și colab. (1973) observă că aceeași cantitate de atrazin se descompune în 5 luni la adîncimea 0—15 cm, în 17 luni pe stratul 15—40 cm, în 41 luni în cel de la 40 la 90 cm.

Ghinea și colab. (1966), concomitent cu Aghundis și Behrens (1966), au pus în evidență și o descompunere anaerobă a triazinelor, confirmată ulterior (Skipper și colab, 1967; Kaufman, 1969; Spiridonov și Kamenski, 1970).

Triazinele pot fi descompuse și în solul steril, considera Horobin (1963), iar Harris (1967) a reușit să demonstreze experimental acest fenomen. S-a demonstrat și o fotoinactivare a triazinelor (Sheets și Danielson, 1960; Dewey, 1970). Hance (1967) a stabilit însă că în solul steril timpul de înjumătățire al triazinelor este de 116 ani. Este evident deci că, cel puțin pentru solurile neutre, fertile, inactivarea nebiologică a triazinelor păstrează o importanță pur teoretică.

Descompunerea biologică a triazinelor a fost descrisă prima dată la plantele rezistente (porumb) de către Roth (1957) sub influența unui hidroxamat ciclic: 2,4 dihidroxi-3 ceto-7 metoxi,-1, benzolinonă (MBOA)

Scanned with OKEN Scanner

şi a enzimelor respiratorii (polifenoloxidază, peroxidază, catalază), aşa cum a arătat Havkin (1962). Ulterior Couch şi colab. (1965) au găsit MBOA şi la o ciupercă din sol (*Fusarium roseum*) capabilă, ca şi porumbul, să hidrolizeze triazinele la poziţia 2. În acelaşi fel sînt descompuse nebiologic triazinele în solurile acide, sub influenţa ionilor de aluminiu (Harris, 1967).

Mc Rae şi Alexander (1965), reluînd o ipoteză a lui Kaufman (1963), au demonstrat că, în experienţele efectuate de către ei, microorganismele au utilizat numai grupările laterale alchilaminice, ciclul triazinic rămînînd intact (acesta începe a fi descompus abia după 16 săptămîni, în ritm foarte lent).

Acest proces de descompunere, denumit desalchilare, duce desigur, ca şi hidroliza, la reducerea fitotoxicităţii erbicidelor, dar el nu reprezintă o adevărată detoxificare a solului, cîtă vreme nu continuă pînă la substanţe minerale simple (apă, bioxid de carbon, amoniac). Uneori prin desalchilare se petrec şi procese de activare a triazinelor aşa cum s-a arătat anterior. Mc Cormick şi Hiltbold (1968), Wagner şi Chahal (1966) au afirmat că cel mult 14% din carbonul heterociclilor este metabolizat pînă la $^{14}CO_2$.

Plimmer şi colab. (1968) au demonstrat că desalchilarea triazinelor în sol, ca şi descompunerea aminoatriazolului, este realizată fără participarea microorganismelor vii, cu aportul radicalilor liberi prezenţi în sol (radicali hidroxi şi perhidroxi), ceea ce pune în evidenţă raporturile strînse cu enzimele oxidative, remarcate încă de Roth (1957).

După Kaufman şi colab. (1965) se pot imagina 3 posibilităţi de inactivare a triazinelor în sol sub acţiunea microorganismelor :

— o simplă utilizare a catenelor laterale ;

— o dezalchilare urmată de dezaminare şi ruperea heterociclilor ;

— folosirea integrală a heterociclului de către microorganisme, în urma dezalchilării şi dezaminării acestuia. Numeroase microorganisme pot utiliza catenele laterale ale triazinelor : *Azotobacter chroococcum*, *Streptomyces* sp, *Fusarium oxysporum*, *Stachybotris* sp, *Trichoderma viride*, *Penicillim purpurogenum*, *Aspergillus flaviceps*, *Aspergillus us tus* dar mai ales *Aspergillus fumigatus*. Aceasta din urmă detoxifică complet atrazinul în 12 zile. Lichidul de cultură în care *Aspergillus fumigatus* a descompus atrazinul favorizează creşterea plantelor test utilizate, deşi nu se ştie dacă această acţiune se datoreşte produşilor intermediari de degradare ai triazinelor sau metaboliţilor elaboraţi de către ciupercă. Trebuie în plus consemnat faptul că plantele care în condiţii naturale sînt rezistente la triazine sînt uneori stimulate în prezenţa acestora. De aceea se poate considera ca mai probabil, că unii produşi intermediari, formaţi în cursul metabolizării triazinelor, au acţiune fitostimulatoare.

Armstrong şi colab. (1967) au elaborat o ecuaţie din care reiese că timpul de hidroliză a 50% din moleculele de atrazin în sol este de 1,32 luni, cel necesar desalchilizării 14 luni, iar pentru ruperea a 50% din heterocicli sînt necesare 34 luni. Hance şi Chesters (1969) au demonstrat experimental ruperea ciclului triazinic.

Utilizarea heterociclilor triazinici nedescompuşi a fost demonstrată încă din 1966 de către Ercegovith şi colab., care au lucrat cu o cultură

de *Escherichia coli*. Ei au observat un fapt deosebit de alarmant (confirmat ulterior și de cercetări făcute la porumb) : în absența din mediu a bazelor pirimidinice, prometrinul este inclus în acizii nucleici ai bacteriei în locul tiaminei și uracilului.

Descompunerea nucleelor poate fi stimulată prin încorporarea de material organic în sol (H a n c e , 1973). W a g n e r și C h a h a l (1966), au constatat că pe această cale poate fi dublată intensitatea procesului. Această posibilitate este foarte importantă mai ales pentru solurile sărace în humus, în care procesul de detoxificare are loc foarte lent. Se impune o precizare : încorporarea materialului organic se va face întotdeauna după cultura tratată cu triazine, în care caz va fi stimulată activitatea biologică globală a solului, producerea de radicali liberi și detoxificarea triazinelor. Incorporarea înaintea tratării este total contraindicată, deoarece se reduce prin adsorbție efectul erbicid așteptat.

S h i m a b u k u r o și colab. (1970), L a m o u r e u x și colab. (1970) au descris la plantele de porumb și sorg un al treilea mod de inactivare a clorotriazinelor și anume conjugarea cu glutationul. Conjugarea triazinelor nu s-a pus în evidență în sol, dar se cunoaște capacitatea fungicidului s-triazinic Dyrene, de a se complexa cu metaboliții microbieni inclusiv cei ce conțin grupări sulfhidrilice (B u r c h f i e l d și S t o r r s, 1957). Pe baza cercetărilor întreprinse, S h i m a b u k u r o propune următoarea schemă de inactivare a triazinelor care se redă modificată la pag. 262.

După cum reiese din schemă, desalchilarea și hidroliza se completează reciproc, în vreme ce conjugarea e un proces complet separat.

Amelina este metabolitul cel mai stabil în toate organismele (microorganisme, plante, animale) la care s-a studiat acest proces. Ea se transformă lent în amelidă, iar aceasta în acid cianuric. Acești 3 produși nu sînt lipsiți de fitotoxicitate (așa cum se știe din încercările întreprinse de a-i folosi ca îngrășământ).

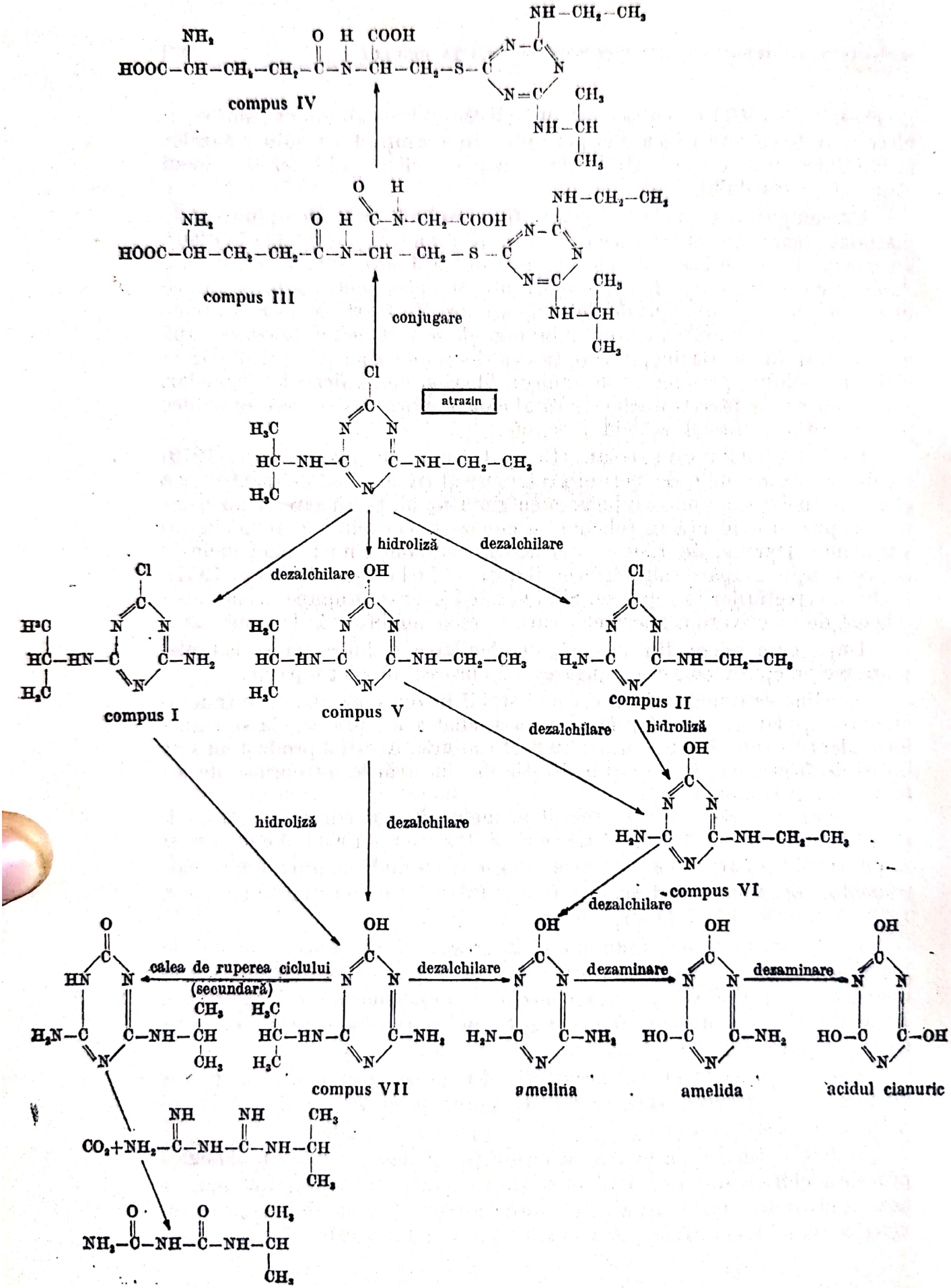
Acidul cianuric este ușor folosit în metabolismul microbian (H a n k și S t e p h e n s o n, 1964; M ü l l e r și P a y o t, 1966; J e n s e n și A b d e l G h a f a r, 1969). El este cunoscut cu mult înaintea erbicidelor triazinice, deoarece a fost găsit în fracția fulvică a humusului (S h o r e y, 1913; W i s s e și W a l t e r, 1917).

Din punct de vedere practic este interesant să se cunoască modul de inactivare a triazinelor în cernoziomurile din țara noastră unde specia dominantă este *Penicillium frequentans*, care desalchilează activ triazinele. În aceste soluri se întîlnește frecvent și *Fusarium roseum*, care descompune aceste erbicide prin hidroliză.

Cromatografia în fază gazoasă (fig. 59) pune în evidență un proces de desalchilare a triazinelor, ceea ce concordă și cu preponderența în sol a *P. frequentans* (G h i n e a și G h e o r g h i a d e , 1970).

Datele obținute sugerează că adsorbția și descompunerea biologică prin desalchilare sînt principalele cauze care determină necesitatea unor doze sporite de triazine în aceste soluri, comparativ cu solurile necernoziomice (G h i n e a , 1966; K u z i a k i n a și colab., 1970.

Scanned with OKEN Scanner


compus IV
compus III
conjugare
atrazin
hidroliză
dezalchilare
dezalchilare
dezalchilare
compus I
compus V
compus II
dezalchilare
hidroliză
hidroliză
dezalchilare
compus VI
dezalchilare
calea de ruperea ciclului
(secundară)
dezalchilare
dezaminare
dezaminare
compus VII
amelina
amelida
acidul cianuric

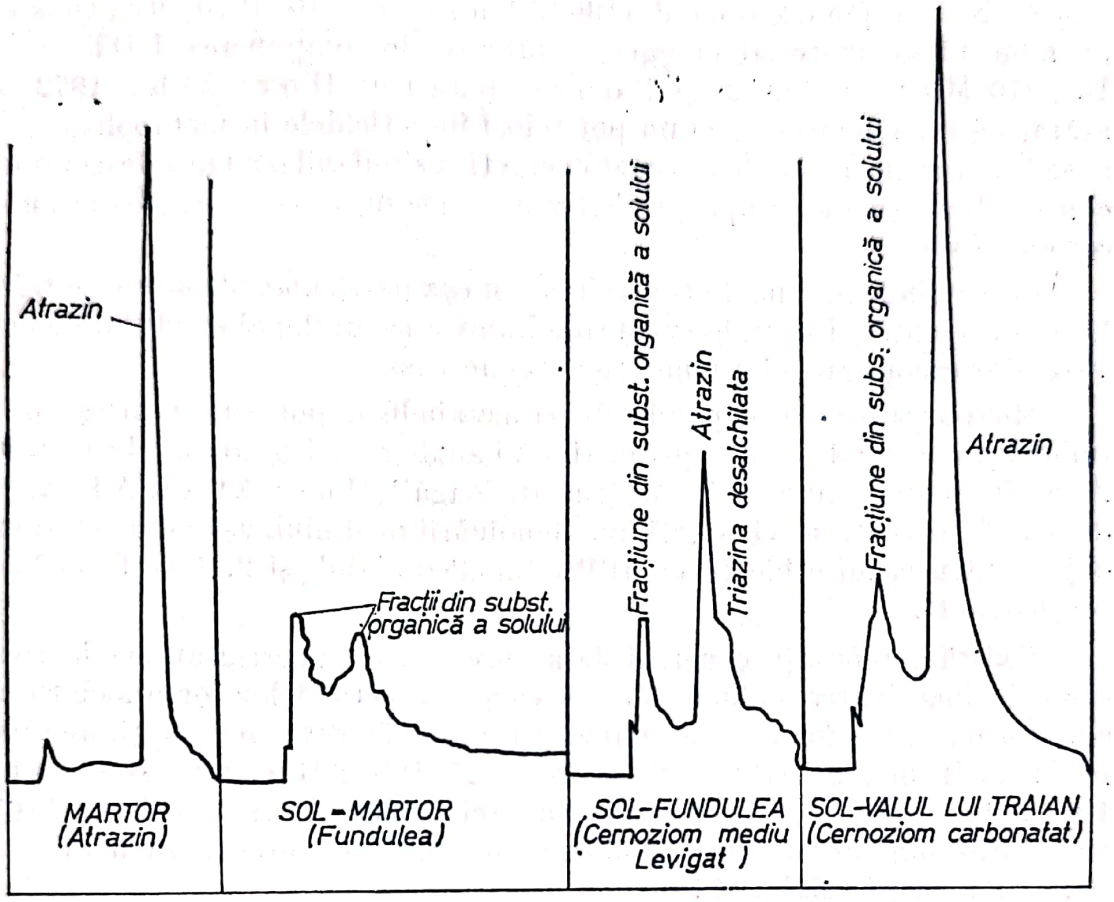


Fig. 59. Reziduurile de triazine dintr-un cernoziom mediu levigat, comparativ cu alte soluri (după Ghinea și Gheorghiade, 1970)

2.4.6. Descompunerea insecticidelor

a. **Descompunerea insecticidelor organoclorinate.** *Fenomenele de cometabolism și îmbogățirea analoagă.* Aceste insecticide sînt cunoscute tuturor ca exemple clasice de recalcitranță la inactivare, fapt exact în linii mari, după cum reiese din datele lui Nash și Voolson (1967), care au găsit că toate acestea produse au un timp de înjumătățire de peste doi ani (35 ani în cazul DDT).

Recalcitranța lor moleculară nu este totuși absolută : încă în 1966 Altman și Lawlor au obținut bacterii care pot inactiva DDT-ul, iar Hohriakova și Sustova (1974) au descris aceeași proprietate la drojdii. Anderson și Lichtenstein (1972) au reușit să obțină din solurile poluate culturi de *Mucor ramanianus* care descompun insecticidul pînă la metaboliți inofensivi (acvasolubili). Această proprietate poate fi blocată prin efectul sinergic al altor insecticide (lindan, paration, dyfonat).

Inoculînd solul poluat cu culturi de *Aerobacter aerogenes*, Kearney și colab. (1967) au reușit să reducă procentul de DDT. Guenzi și Beard

(1968), Ko şi Lockwood (1968), Parr şi colab (1970) etc., constată că adaosul de material energetic grăbeşte descompunerea DDT în sol. În 1970 Matsumura şi Boush (citaţi de Horváth, 1972) au arătat că microorganismele nu pot folosi insecticidele în metabolism şi de aceea au nevoie de un alt substrat energetic asimilabil pentru a descompune concomitent şi substanţa recalcitrantă, fenomen pe care l-au numit *cometabolism*.

Cometabolismul poate fi privit ca un caz particular (deoarece se referă la produşi sintetici şi nu la substanţe humice naturale) al efectului de activare, dar esenţa ambelor fenomene este aceeaşi.

Microorganismele capabile de cometabolism pot suferi procesul de îmbogăţire prin adaosul în mediu al unui analog biodegradabil al toxicului. Acest fenomen, denumit „îmbogăţire analoagă" (Horváth şi Alexander, 1970) poate servi la grăbirea depoluării mediului, aşa cum s-a arătat deja pentru cazul erbicidelor MCPA (biodegradabil) şi 2, 4, 5 T (poluant recalcitrant).

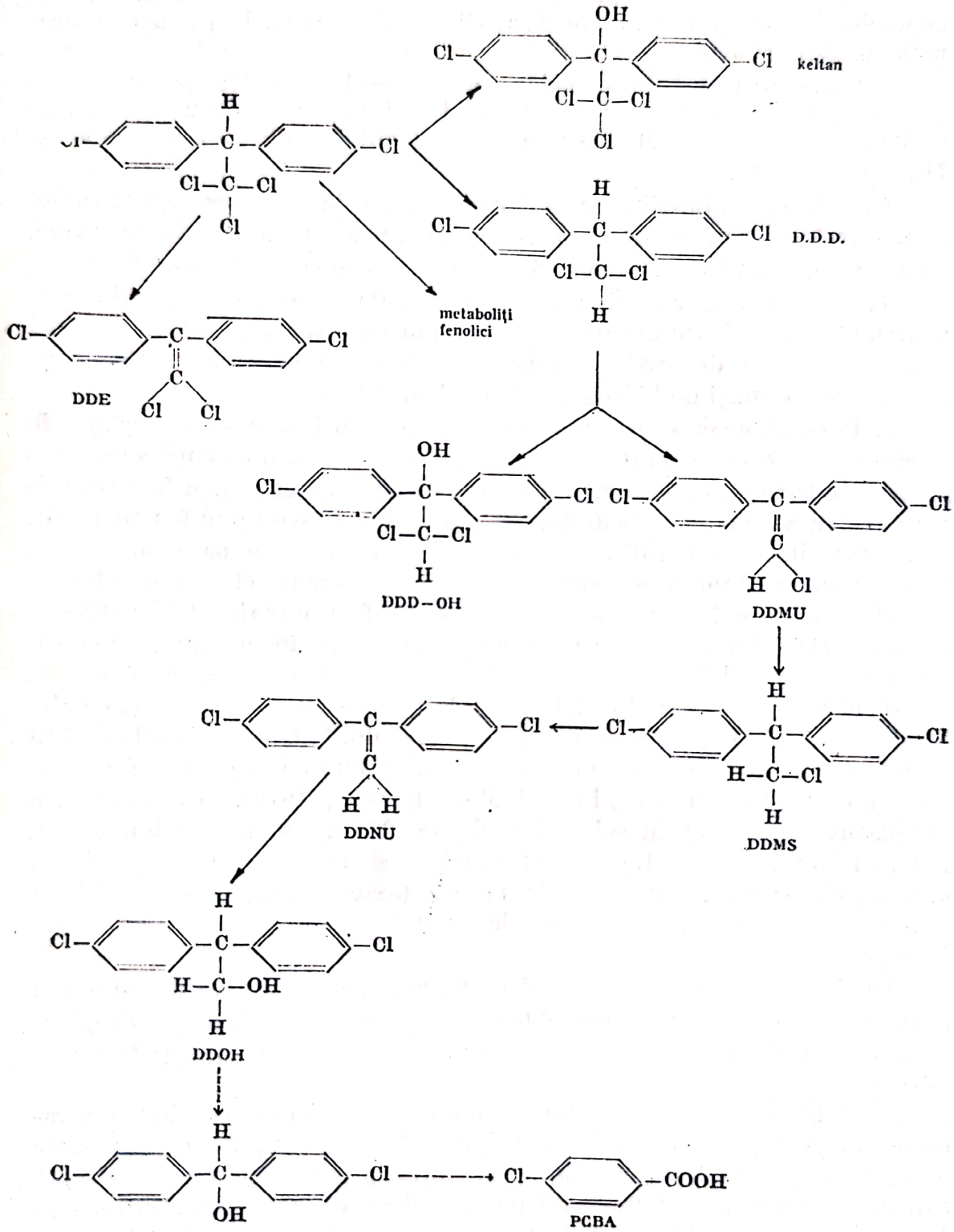
Există o tendinţă generală de a aprecia că aerarea grăbeşte în toate cazurile inactivarea poluanţilor. În cazul insecticidelor organoclorurate aceasta nu se verifică, descompunerea fiind mai activă în condiţii de anaerobioză : în orezării (Duffy şi Wong, 1967; Guenzi şi Beard, 1967), ape stătătoare, rumenul erbivorelor (Miskus şi colab., 1965). În solurile bine aerate descompunerea acestora este practic nulă (Yule, 1970; Parr şi colab., 1970).

Mecanismul inactivării DDT a fost elucidat de către Plimmer şi colab. (1968) şi Korte (1971). El are ca termeni intermediari p, p'bis (clorofenil) metanul, acidul p-clorofenilacetic şi 2, 2, 2, tricloro-1,1, difeniletanul, (cum reiese din schema de la pag. 265) după care are loc ruperea ciclului şi inactivarea totală a insecticidului.

Insecticidul HCH este mai uşor biodegradabil decît DDT, izomerul γ fiind cel mai stabil. El este descompus tot anaerob (Lichtenstein şi colab., 1966; Mc Rae şi colab., 1967), materia organică influenţînd favorabil procesul, prin stimularea cometabolismului şi scăderea conţinutului de oxigen în sol (Sethunathan, 1973). Dimpotrivă, adaosul de nitraţi (care pot fi denitrificaţi) are rol negativ (Yoshida şi Castro, 1970). La descompunere participă alge (von Mayer-Bode, 1965) dar mai ales bacterii din genul *Clostridium* (Sethunathan şi colab., 1969; Mc Rae şi colab., 1969; Sethunathan şi Yoshida, 1973).

b. **Descompunerea insecticidelor epoxidice.** Aceste substanţe sînt extrem de recalcitrante la biodegradare (Lichtenstein şi colab., 1970). Lichtenstein (1971) a regăsit 20 % din dieldrinul încorporat în sol cu 6–10 ani înainte. Nash şi Harris (1973) au regăsit şi după 16 ani de la încorporarea în sol o parte din aceste insecticide, iar Lich-

Scanned with OKEN Scanner


keltan
D.D.D.
metaboliți
fenolici
DDE
DDD–OH
DDMU
DDNU
DDMS
DDOH
PCBA

tenstein (1971) a semnalat în solurile tratate cu 6 ani înainte cu heptaclor, chiar epoxizi organoclorinaţi (clordan, nonaclor) aflaţi în preparat ca impurităţi.

S-a demonstrat totuşi biodegradarea acestor insecticide (Milles şi colab., 1969; Schuphan şi Balashmitte, 1972) chiar pînă la bioxid de carbon (Matsumura şi colab., 1967; Jagnow şi Haider, 1972).

De obicei metabolizarea aldrinului duce la formarea dieldrinului (foarte stabil), dar o specie de *Pseudomonas*, poate realiza procesul invers, detoxificînd complet pesticidul (Matsumura şi colab. 1968).

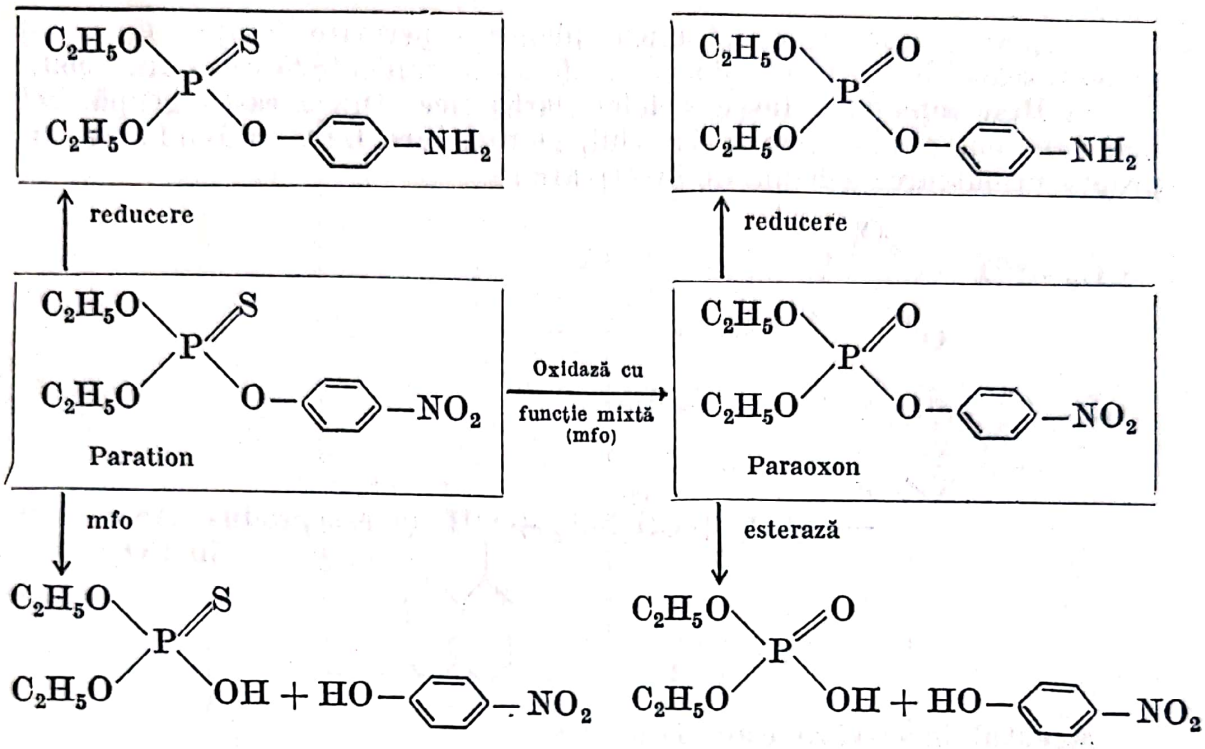
Trebuie însă să considerăm hidrocarburile epoxidice ca o primejdie pentru mediul ambiant deoarece microorganismele sînt capabile să producă o mare varietate de produşi asimetrici prin reordonarea lor moleculară, realizată prin punţi de hidrogen (Brooks, 1971).

c. **Descompunerea insecticidelor organofosforice.** Această grupă de insecticide este în general cunoscută ca avînd în componenţă substanţe extrem de toxice (primele substanţe din această categorie au fost sintetizate pentru a servi ca gaze de luptă), dar care se descompun foarte rapid. Dacă toxicitatea lor ridicată este certă pentru numeroase substanţe, descompunerea rapidă se verifică numai atîta vreme cît ele se află pe suprafeţe expuse luminii care constituie un factor major de inactivare. Leoni (1971) le-a găsit în toate apele din Italia, în mediul acvatic ele avînd o mare stabilitate. Parationul, produsul cel mai cunoscut din grup, a fost găsit în sol după 10—20 ani de la tratare (Mc Phee şi colab., 1960; Stewart şi colab., 1970). Astăzi se admite că parationul persistă în sol de la cîteva săptămîni la cîţiva ani (Burckhardt şi Fairchildt, 1967; Chisholm şi Mc Phee, 1972). De asemenea dyfonatul a persistat în sol mai mult de 28 săptămîni (Ahmed şi Morrison, 1972). Lichtenstein şi colab. (1968), consideră descompunerea parationului în sol un proces predominant chimic, Salber şi colab. (1972), Salzsman şi colab. (1974) — un proces în primul rînd biologic.

Unele microorganisme pot descompune parationul prin reducerea grupării nitro-*Streptomyces aureofaciens* —, altele prin hidroliză — drojdiile — şi altele prin reducere şi hidroliză — *Rhizobium* — (Mick şi Dahm, 1970).

Microflora are asupra insecticidelor organofosforice un efect contradictoriu: pe de o parte reduce cantitatea de reziduuri, de pe altă parte măreşte periculozitatea pentru om şi mamifere printr-un proces de activare caracteristic grupului. Parationul poate fi deci sau detoxificat sau transformat în paraoxon, produs mai toxic decît insecticidul amintit. Adoptarea uneia sau alteia din căile metabolice depinde de specificul florei microbiene prezente în sol. Se dă în continuare, după Casida (1971), schema metabolizării în sol a parationului (încadraţi sînt metaboliţii toxici pentru om):

Scanned with OKEN Scanner



Insecticidul apropiat de paration, malationul este descompus de către *Trichoderma viridae*, *Pseudomonas* sp. prin carboxiesteraze (M a t s u m u r a și B o u t s c h , 1966). Descompunerea în sol este precedată de o perioadă tipică de adaptare și duce la formarea acidului tiomalic, a esterului acestuia și a dimetil fosfatului (K o n r a d , 1969). În solul „îmbogățit" nu este nevoie pentru descompunere de bacterii active, deoarece se acumulează o exoenzimă (malationază) capabilă să efectueze detoxificarea insecticidului (G e t z i n și R o s e f i e l d , 1968, 1971).

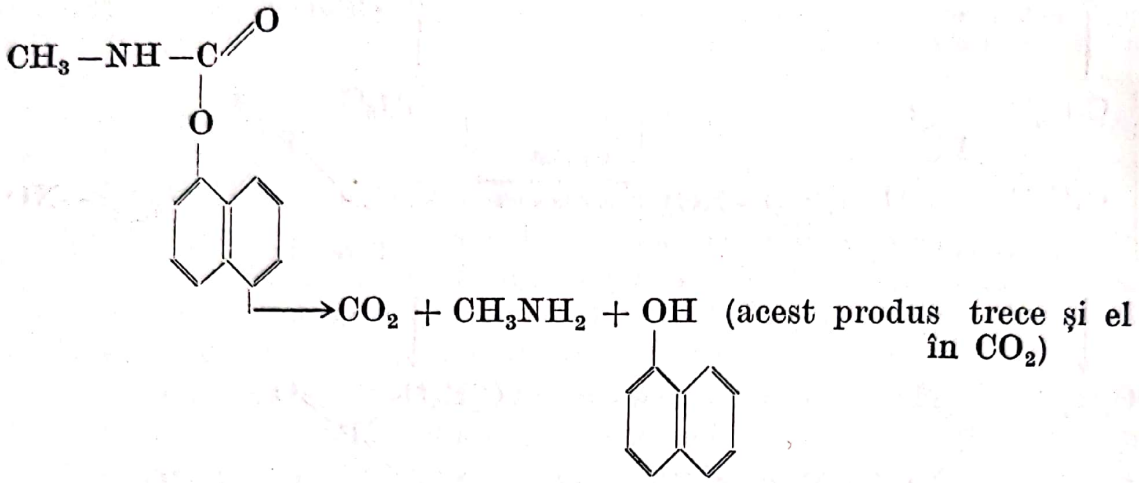
G u n n e r și colab. (1966) au constatat că diazinonul aplicat pe frunze este eliminat de plantă prin rădăcină, reducînd cu 50 % numărul microorganismelor rizosferice. Proliferează însă o specie bacteriană, care poate folosi diazinonul ca sursă de sulf, apoi ca sursă de fosfor, carbon și chiar azot. Diazinonul este astfel transformat în compuși inactivi față de insecte, dar cu acțiune selectivă asupra microflorei, căci favorizează multiplicarea în rizosferă a actinomicetelor. S e t h u n a t h a n și P a t h a k (1972) arată că în sol diazinonul este descompus mai lent decît în rizosferă, dar, în orice caz, în 75 de ore el se transformă în întregime în 2-izopropil 4-hidroxipirimidină, care la rîndul său este metabolizată complet în 25 de ore.

Disulfonatul (substanță activă a insecticidului Disyston) este descompus de către microflora solului prin oxidare (T a k a s e și colab. 1972), în timp ce fenitrotionul este descompus prin reducere. De aceea nu s-a pus în evidență formarea fenitroxonului (M i y a m o t o , 1971).

„Îmbogățirea" solului în raport cu aceste insecticide a fost în mod constant pusă în evidență (S e t h u n a t h a n și P a t h a k , 1972; K a g e y a m a și colab., 1972).

Ciupercile din sol ca şi unele plante superioare (ceapă, morcovi) mineralizează bromofosul pînă la fosfaţi anorganici (Stenersen, 1969).

d. **Descompunerea insecticidelor carbamice.** Din această grupă, cel mai cunoscut produs este carbarylul, pentru care Liu şi Bollag au propus următoarea schemă de inactivare :



Agentul inactivării este *Achromobacter*

2.4.7. Descompunerea fungicidelor

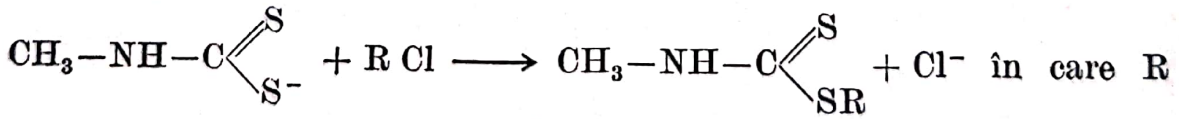
Printre aceste substanţe fitofarmaceutice, cele mai amănunţit studiate au fost ditiocarbamaţii, fungicide cu largă întrebuinţare în practică. Aceste fungicide sînt instabile în sol, dar mecanismul lor de descompunere este încă incomplet cunoscut.

Ditiocarbamaţii se împart în două subgrupe :

— dialchilditiocarbamaţii, între care sarea de sodiu (NaDDC), de fier (ferbam), de zinc (ziram). Produsul lor de oxidare, tetrametiltiuramidisulfitul, este şi el folosit sub denumirea de tiram ;

— etilen-bis-ditiocarbamaţii, între care sarea de sodiu (nabam), de zinc (zineb), de mangan (maneb).

Ca exemplu pentru inactivarea primei subgrupe, se dă schema de inactivare a fungicidului tiram. Degradarea are loc foarte rapid (Sane şi colab., 1974). Ea se petrece probabil astfel (Maeda şi Tonomura, 1968) :



în care R poate fi nemagon, EDB sau o altă alchenă polihalogenată (Miller şi Lukens, 1966).

Carboxanilidele sînt descompuse de către *Nocardia* (Bachhofer şi colab., 1968) printr-o reacţie de ordinul I. Timpul de înjumătăţire este de 46-177 zile (Caro şi colab., 1973).

Trifenil acetatul de staniu (Brestanul) este descompus relativ lent : 25 % din doză în decurs de 2 luni (Süs şi Eben, 1973).

Scanned with OKEN Scanner

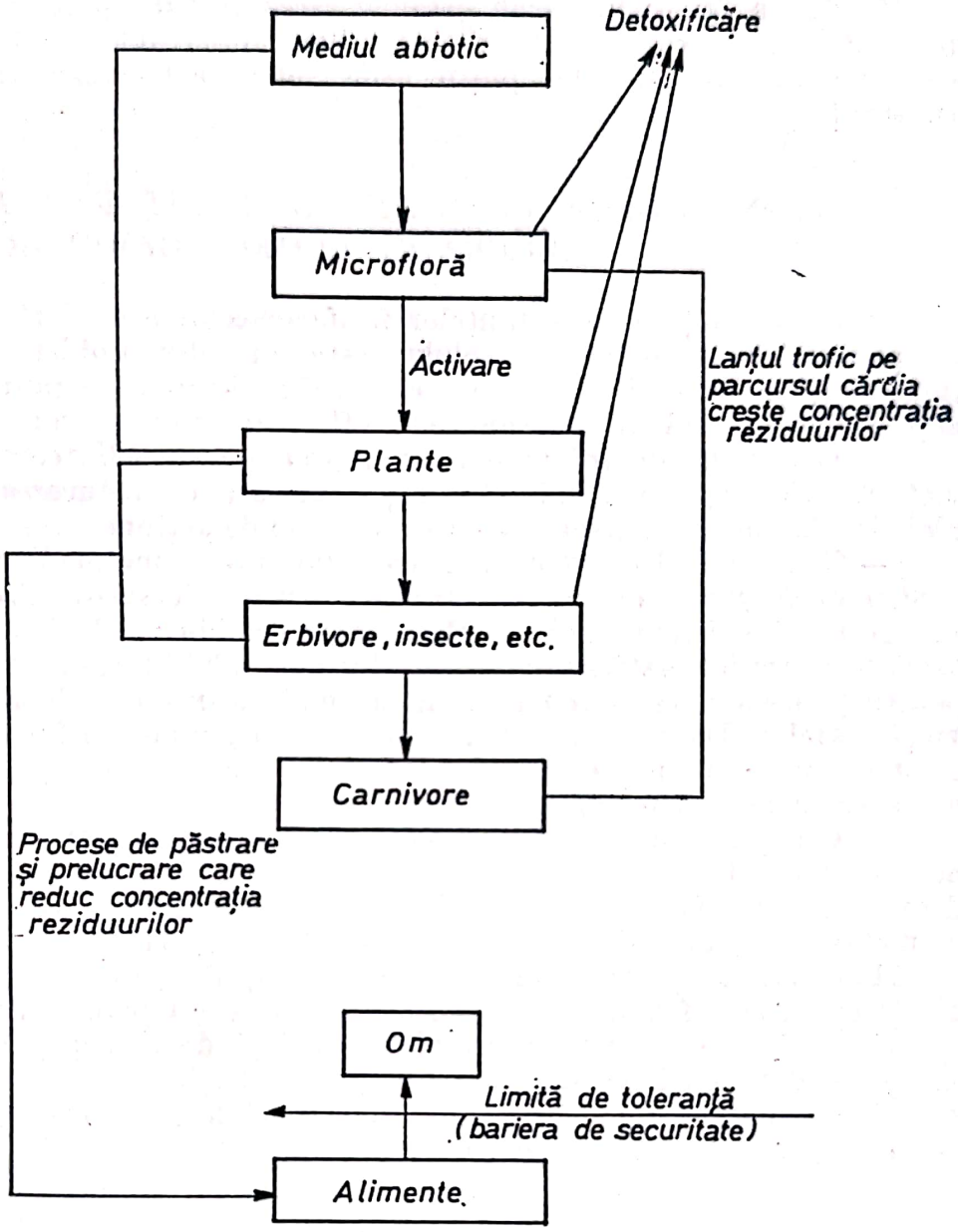


Fig. 60. Schema provenienței reziduurilor în mediu ambiant (după v a n T i e l 1971 modificată)

Concluzii. Recalcitranța moleculară a pesticidelor este numai relativă. Ea depinde de condițiile de mediu, precum și de doza de pesticid încorporată, variind de asemenea de la o categorie la alta de substanțe (K e a r n e y și colab., 1967 ; F o y și colab., 1968).

În procesele de biodegradare o atenție deosebită trebuie acordată rizosferei, datorită concentrării microorganismelor și activității microbiene foarte intense ce se desfășoară aici. Multe pesticide ce nu se descompun în sol, pot fi descompuse în rizosferă (E s s e r , 1970).

În figura 60 s-a încercat sistematizarea tuturor proceselor pe care pesticidele le suferă de-alungul lanţurilor trofice într-o formă evident simplificată, dar nu mai puţin utilă celor ce lucrează cu astfel de substanţe.

3. INFLUENŢA SUBSTANŢELOR FITOFARMACEUTICE ASUPRA MICROORGANISMELOR DIN SOL

Problema acţiunii substanţelor fitofarmaceutice ca factor de stress al populaţiei microbiene a solului este una din problemele de mare importanţă pentru viitor (G u n n e r, 1970). Practic ne putem imagina acţiunea acestor substanţe asupra microflorei în trei moduri :

— O acţiune de inhibare a unui proces metabolic comun tuturor vieţuitoarelor, spre exemplu respiraţia, urmată de reducerea activităţii globale. Compuşii cu arsen manifestă o astfel de acţiune.

— O acţiune selectivă, de inhibare a unui proces metabolic vital numai pentru unele grupe de microogranisme, urmată de substituirea acestora prin germeni rezistenţi şi de instalarea unui echilibru biologic complet deosebit de cel iniţial. Astfel, numeroase erbicide ce inhibă fotosinteza sînt toxice pentru plantele verzi, dar mai mult sau mai puţin bine tolerate de restul vieţuitoarelor. D o m s c h (1972) citează un exemplu de fungicid care a oprit complet circuitul carbonului în sol, cu toate consecinţele ce decurg din aceasta pentru fertilitate.

— O acţiune de stimulare directă sau indirectă pentru una sau mai multe grupe de microorganisme. Substanţele fitofarmaceutice care se descompun uşor favorizează înmulţirea microorganismelor ce le pot folosi în metabolism, fapt demonstrat încă de R e m y (1907) şi verificat de B j ā l f e (1957) pentru cianamida de calciu, P e a r c e (1958) pentru 2,4 D etc. Acest fenomen are aplicaţii în protecţia plantelor : 6-azouracilul se foloseşte în protejarea plantelor faţă de ciuperca *Pythium de barianum*, deşi este lipsit de proprietăţi fungicide. Acţiunea de protecţie se datoreşte stimulării înmulţirii în rizosfera plantelor a antagoniştilor naturali ai ciupercii (D e k k e r şi S t a n k o v a , 1970).

3.1. INFLUENŢA ASUPRA BACTERIILOR

Printre substanţele fitofarmaceutice, cel mai bine studiate din acest punct de vedere sînt erbicidele, îndeosebi aminotriazinele.

Agricultura noastră foloseşte pe scară largă clorotriazine — atrazin, simazin şi metilmercaptotriazine-prometrin.

Se consideră în general că aminotriazinele nu influenţează numărul microorganismelor din sol (de B a r j a c şi colab., 1958; B a l i c k a şi colab., 1969 etc.) deoarece ele nu sînt utilizabile ca sursă de energie şi au o slabă solubilitate, fiind în acelaşi timp netoxice pentru organismele fără clorofilă.

V o d e r b e r g (1961) a arătat că dozele mari de aminotriazine pot fi totuşi toxice pentru microorganisme. Dozele mari de aminotriazine au fost toxice şi în experienţa lui Steinbrenner şi colaboratorii, (1961), în timp

Scanned with OKEN Scanner

ce dozele mici au fost stimulatoare. Efectele stimulatoare ale dozelor mici de aminotriazine au mai fost semnalate de Smith și Weerartna (1974).

Între tipul de sol și efectul aminotriazinelor asupra microflorei există o interacțiune (Cesalin și colab., 1962). În funcție de tipul de sol și de climă, doza limită de toxicitate a triazinelor față de microfloră variază mult: între 300 kg/ha (Guillemat și colab., 1960) și doze cu puțin superioare celor uzuale (Hulea și colab., 1961; Malamina și Nikitin, 1971).

Așa cum este de așteptat, prin acțiunea sa de absorbție, materia organică a solului exercită o acțiune de protecție a microflorei față de acțiunea toxică a triazinelor (Purna și colab., 1960).

Efectul inhibitor al aminotriazinelor este mai însemnat pe solurile acide (Steinbrenner și colab., 1961).

Inhibarea produsă de triazine nu depășește durata de 30 zile de la tratare (Purna și colab., 1960; 1962; Ghinea, 1964; Kulinska, 1967). Numai excepțional (în două soluri din 72 cercetate de Purna) efectul s-a prelungit 56 de zile. Resturile buruienilor distruse de erbicide ajută (furnizînd hrana necesară) la refacerea microflorei (Audus, 1970).

Reducerea temporară a numărului de microorganisme în solul tratat este însoțită de o reducere corespunzătoare a activității lor respiratorii. În mod oarecum particular acționează erbicidele asupra microorganismelor din rizosferă.

Diferite specii de bacterii din rizosferă s-au dovedit a avea o sensibilitate inegală la tratamentul cu aminotriazine. *Bacillus megaterium* și *Pseudomonas fluorescens* s-au dovedit foarte sensibile, în timp ce *Bacillus cereus* și *Flavobacterium caudatum* nu au reacționat în prezența acestora (Kozlova și colab., 1964; Kolceva și Markova, 1964).

În legătură cu sensibilitatea inegală a diferitelor specii de microorganisme la aminotriazine, trebuie precizat dacă revenirea la o activitate normală a florei bacteriene din sol la aproximativ o lună de la tratare, reflectă o adaptare generală a micropopulației la erbicid, sau substituirea grupelor sensibile de microbi cu altele rezistente. Pentru lămurirea acestui aspect s-a studiat în dinamică, compoziția taxonomică a microflorei unui sol de tip cernoziom mediu levigat în timpul perioadei de vegetație a porumbului (Ghinea, 1966).

Autorul a observat că imediat după tratarea cu atrazin, scade proporția de *Bacillaceae* din sol (29 față de 57% în varianta martor), în vreme ce alte grupe microbiene înregistrează creșteri, (15 % față de 7 % *Pseudomonadaceae*; 42% față de 28% *Coccaceae*).

Sensibilitatea deosebită a bacilaceelor (comparativ cu cocii și bacteriile nesporogene), față de triazine a fost confirmată de Kaiser și colab. (1970); Kozlova și colab., (1964); Nepomiluev și colab., (1966); Audus, (1970).

Produsul metoxitriazinic atraton este toxic pentru microflora solului, ceea ce explică rezistența sa neobișnuită la descompunere (Duke, 1964).

Preparatul metilmercaptotriazinic prometrin nu inhibă activitatea biologică globală fiind chiar ușor stimulativ (Vasiliev și Enkina,

Scanned with OKEN Scanner

1967; Kavoliunaite şi Spokauskas, 1974). Faţă de diferite grupe de bacterii s-a comportat analog clorotriazinelor (Ghinea, 1964).

S-a observat (Balicka şi Bilodub-Pantera, 1961) că există o diferenţiere de sensibilitate la triazine, chiar şi între tulpinele aceleiaşi specii microbiene.

Fenolii substituiţi sînt, în general, toxici pentru microorganisme (Verona, 1948; Voderberg, 1961 etc.). Printre aceste preparate, dinosebul produce o inhibare foarte persistentă (Gamble şi colab., 1952; Colmer, 1954).

De foarte multă atenţie, corespunzător întinsei aplicaţii practice pe care o au, s-au bucurat erbicidele pe bază de acid fenoxiacetic (în special 2,4 D).

Unii cercetători au observat că aceste erbicide au un oarecare efect stimulator asupra microflorei (Egoreva, 1955; Iliin, 1963; Bakalivanov şi Nilova, 1969). Alţi cercetători, dimpotrivă, au observat un efect inhibitor (Word şi Mc Cabe, 1948; Nepomiluev şi Kuziakina, 1965). Inhibarea s-a observat uneori numai la doze foarte mari de erbicid (Voderberg 1961). Stevenson şi Mitchel (1945) situează limita de toxicitate pentru microfloră, la o concentraţie foarte ridicată de erbicid în sol (0,2 %).

În lucrarea lor de sinteză, Newman şi Downing, (1958) arată că influenţa 2,4 D şi a erbicidelor similare asupra microflorei depinde de tipul de sol, care controlează procesul prin conţinutul de materie organică, cantitatea şi calitatea argilei, precum şi pH- (aceeaşi doză de substanţă este inhibitoare la pH = 5,6 dar inofensivă la pH = 6,4).

În concluzie, Audus, (1964) arată că majoritatea cercetătorilor admit că dozele uzuale ale acestor erbicide nu au efect asupra microflorei. Este periculos totuşi să se tragă concluzii numai pe baza aprecierilor globale, deoarece inhibarea unui grup de microorganisme poate fi mascată de proliferarea altuia. Wort şi Mc Cabe (1948) atrag atenţia asupra legăturii care există între comportarea bacteriilor la 2,4 D şi tipul respiraţiei acestora. Bacteriile gram-negative sînt mai rezistente la acţiunea acestei substanţe decît cele gram-pozitive (Newman şi Downing, 1958). Bacteriile sporogene sînt cele mai sensibile (Stapp şi Freater, 1952; Newman şi Downing, 1958; Hart şi Larson, 1966), îndeosebi *B. cereus* (Maştakov şi colab. 1962).

Condiţiile de nutriţie ale microorganismelor influenţează puternic rezistenţa microorganismelor la aceste erbicide (Johnson şi Colmer, 1955).

Erbicidul 2,4 D (uşor de descompus), favorizează acumularea în sol a acelor specii de microorganisme capabile să-l folosească ca sursă de energie (Pearce, 1958; Cullimore, 1969).

Westlake (1955) semnalează creşterea numărului de bacterii în rizosfera ovăzului tratat cu 2,4 D, ca urmare a creşterii cantităţii de secreţii radiculare, în special aminoacizi.

Din seria acestor erbicide, 2, 4, 5, T este cel mai toxic (el inhibă cel puţin 3 luni microflora solului) în timp ce MCPA pare inofensiv (Newman, 1948; Voderberg, 1961 etc.).

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 44

Efectul diferitelor erbicide asupra microorganismelor

Categoria de erbicide	Efectul observat	Autorul observației
A. Benthazon	Inhibitor numai la doze mari	Jung, 1972
B. Aminotriazol	Fără efect	Kratochwill, 1951; Bondarcenko, 1957 și 1958; van Schreven și colab. 1970
	Efect inhibitor	von Keller, 1961; Kaufmann, 1963
C. Diazine	Doze normale ușor stimulative	Levi și Crafts, 1952; Fryer și Evans, 1968; Helweg Anderson, 1971
Hidrazida maleică	Doze mari inhibitoare	Nickel, 1953; Newman și Downing, 1958; Magee, 1958
Pyrazon	Fără efect	Apltauer și Skoplikova, 1966; Audus, 1970
Terbacil	Stimulator în doze mari	Liu și Gibes-Viadé, 1972
D. Substituenții ureei	Fără efect	Grossbart, 1971 Audus, 1970
	Inhibitor 30 zile	Tulabaev, 1972
Monuron și Diuron	Inhibitor	Corke și Robinson, 1960; Voderberg, 1961; Bartha și colab; 1967.
Linuron	Stimulator	Sivasithamparam, 1970; Liu și Gibes Viadé, 1972
	Doza toxică: 3%	Manninger și Szava, 1972
E. Carbamați	Inhibitor	Bartha și colab., 1967; Fryer și Evans, 1968
I.P.C.	Inhibitor	Newman, 1947; Kratochwil, 1951
C.I.P.C.	Slab inhibitor	Newman, 1948; Stotzky și colab., 1956; Teater și colab., 1958; Scliar și colab., 1961; Voderberg, 1961; Matsuguki și Ishizawa, 1969; Balicka și colab., 1969)
	Inhibitor numai față de *Bacillus cereus* var. *mycoides*	Kozlova și Dikareva, 1963
Alipur (16,5% ciclouron + + 11,5% clorbufam)	Inhibitor	Nepomiluev și Kuziakina 1965; Nepomiluev și colab. (1966)
	Fără efect	Nikolenko, 1965; Isaeva și Novogrudskaia, 1966
	Fără efect Ușor stimulativ	Novogrudskaia și colab., 1965; Mațneva și Semihatova, 1973
Murbetol (8,4% profam+ + 14% endothal)	Inhibitor	Nepomiluev și Kuziakina, 1965 Nikolenko, 1965
	Inhibitor pentru *Bacillaceae*	Nepomiluev și Kuziakina, 1965
	Fără efect	Novogrudskaia și colab., 1965 Isaeva și Novogrudskaia, 1966
F. Tiocarbamați	Inhibitor	Bartha și colab., 1967; Saiver, 1971; Rahimov și Rîdina, 1963
G. Amide	Stimulator	Fryer și Evans, 1968 Mitkowski, 1970
Difenamid	Inhibitor	Mitkowski, 1972
H. Acilanilide (Propanil)	Fără efect	Audus, 1970

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 44 (continuare)

Categoria de erbicide	Efectul observat	Autorul observației
I. Bipiridili (paraquat și diquat)	Fără efect	Tu și Bolenn, 1968 Giardina, Tomati și Pietrosanti, 1970
Picloram	Inhibitor Fără efect	van Schreven, 1970; Dubey, 1969 Goring, și colab., 1967; Audus, 1970 Bollen, 1969; Audus, 1970; Grover, 1972
	În amestec cu TCA sau dalapon, stimulează	Medvedev și Burmistrov, 1972
J. Derivați benzoici clorinați	Variabil	Helweg, 1972
Dicamba	Slab inhibitor	Kozirev și Laptev, 1972
Diclobenil	Fără efect	Nikolova și Bakalivanov, 1972
K. Bromoxinil, ioxinil	Puternic inhibitor	Langkramer, 1970; Flechter, și Smith 1964; van Schreven și colab., 1970
L. Endothal	Inhibitor	Nepomiluev și Kuziakina, 1965 Nikolenko, 1965
	Stimulator	Novogrudskaia și Isaeva, 1965
M. Toluidine (Trifluralin)	Inhibitor la doze mari	Breazele și Camper; 1970; Liu și Gibes — Viadé, 1972
	Fără efect la doze mici	Gruzdev și colab., 1973
N. Acizi alifatici halogenați, T.C.A.	Inhibitor	Kratochwill, 1951; Colmer, 1953, 1954; Döbereiner și Da Cruz Paixao, 1956; Fryer și Evans, 1968; Pantera, 1972)
Dalapon	Ușor stimulator	H-L. Jensen, 1954; Holstrom și Loomis, 1965; Worsham și Giddens, 1967: Olson, 1960
	Inhibitor pentru metanbacterii	Magee și Colmer, 1962. Laskowski și Broadbent, 1970
O. Erbicide anorganice		
Cianamida de calciu	Stimulator	Remy, 1907; Bjälfe, 1956
Cianat de potasiu	Fără efect	Rankov și colab., 1966
Sulfamat de amoniu	Fără efect	Smith și colab., 1945
Arsenit de sodiu	Fără efect	Quastel și Schölefield, 1951
Clorura de sodiu	Fără efect Inhibitor	Aberg, 1948; Fletcher, 1960 Smith și colab., 1945 Brown și Newton, 1933
Clorat de potasiu	Fără efect	Nilsson, 1951; Karki și colab. 1973
Borat de sodiu	Fără efect	Smith și colab., 1946; Nilson, 1951; Johnson și Torstenson, 1956
	Inhibitor față de *Bacillus amylolilicus*	Nilson, 1951

Acizii fenoxibutirici s-au arătat de asemenea inhibitori numai la doze masive (Fryer și Evans, 1968), în timp ce derivații fenoxipropionici sînt inhibitori chiar la doze uzuale.

Produsul TCDD, contaminant frecvent al erbicidelor pe bază de 2,4,5 T (și cu efecte spectaculoase asupra omului și mamiferelor) este puternic bactericid și mutagen: 2 μg/ml au redus cu 82% numărul celulelor de

Escherichia coli și *Salmonella typhymurinum* și au mărit de 11 — 80 ori frecvența mutațiilor la bacteriile care au supraviețuit (H u s e i n și colab., 1972).

Între insecticide, Hexatoxul pare lipsit de efect nociv asupra numărului și activității microorganismelor din sol (R î j k o v a, 1947; P o c h o n și L a j u d i e, 1948) sau chiar ușor stimulator (B o l l e n și colab., 1954; D r u i și colab., 1971; N a u m a n n, 1971).

Dintr-o experiență efectuată pe cernoziom (Fundulea), solul tratat cu Hexatox a respirat mai intens și a conținut un număr mai mare de bacterii decît solul martor. Stimularea microflorei solului a fost oglindită și de numărul mai redus de spori bacterieni în solul tratat (tabelul 45). D r u i și colab., (1971) găsesc de asemenea un număr mai redus de bacterii sporulate în solul tratat cu izomerul pal HCH.

Aldrinul pare a influența în mică măsură activitatea microbiană a solului (J o h n s o n și F a h r e n s, 1960).

În experiențele de la Fundulea pe parcelele tratate cu aldrin s-a determinat un număr mai redus de microorganisme decît în solul martor.

Micropopulația solului tratat a respirat mai puțin intens. În solul tratat, s-a întîlnit de asemenea un număr mai redus de bacterii sporulate. Acest fapt ar putea fi legat eventual de sensibilitatea specială a acestora la asemenea produse.

DDT-ul nu provoacă modificări cantitative și calitative ale microflorei (W i l s o n și colab., 1946; S a l o n i u s, 1972; D r u i și colab., (1971).

Lindanul și endrinul au stimulat uneori microflora rizosferică (L o d h a și L a l l, 1969).

În general, insecticidele organo-fosforice sînt cele mai toxice pentru microfloră, iar cele carbamice sînt mai ușor suportate (A b u l g h a r, 1970).

Tabelul 45

Influența unor insecticide asupra activității microbiene a cernoziomului mediu levigat de la Fundulea (după E l i a d e și G h i n e a, 1961)

Intervalul dintre tratarea și recoltarea probelor, zile	Varianta	Respirația solului (O_2/oră)	Nr. total de bacterii (milioane/g sol)	Nr. bacteriilor sporulate (milioane/g sol)
2	Martor	778	15,9	4,35
	Hexatox 3%	649	20,4	4,42
	Aldrin 5%	628	16,2	3,49
6	Martor	785	21,6	4,48
	Hexatox 3%	741	19,8	4,12
	Aldrin 5%	707	15,2	2,80
120	Martor	1 288	21,2	2,80
	Hexatox 3%	1 636	22,5	2,70
	Aldrin 5%	1 305	19,9	1,90
180	Martor	948	17,1	5,30
	Hexatox 3%	1 180	18,9	6,60
	Aldrin 5%	754	16,4	4,60

Scanned with OKEN Scanner

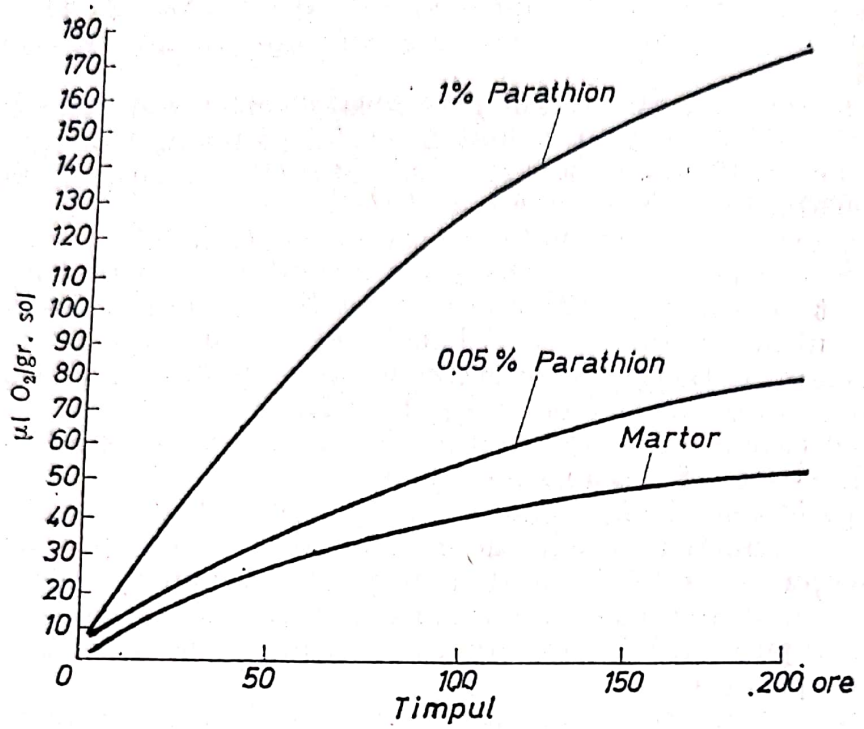


Fig. 61. Influenţa parathionului asupra respiraţiei solului (după Naumann, 1970)

Totuşi metil-parathionul în concentraţie de 0,5 % (de 200 ori doza normală) stimulează net microflora, respiraţia solului şi descompunerea glucozei. O stimulare de scurtă durată se observă şi la doza normală de insecticid (fig. 61). Insecticidul Dursban a avut şi el efect stimulativ (Sivasithamparam 1970).

Nematocidele-DD (amestec de 1,2 dicloropropan şi 1,3 diclorpropilen), cloropicrina, D 209 (dibrometan) şi Nemagon (1,2 dibrom, n3-clorpropan)-inhibă, în general, respiraţia microorganismelor din sol (excepţie : D 209). Toate preparatele, cu excepţia DD provoacă o sporulare intensă a bacteriilor. Preparatul DD dimpotrivă, deşi inhibă respiraţia, duce la scăderea numărului de spori bacterieni în sol. Este probabil vorba, în acest caz, de o sensibilitate specială a bacteriilor sporogene la tratare. În urma tratării, creşte numărul de bacterii care nu se pot dezvolta în medii de cultură în absenţa aminoacizilor şi a factorilor de creştere. În urma tratării cu cloropicrină creşte numărul de bacterii imobile în sol (Le Borgne, 1966).

Dintre fungicide, preparatele pe bază de TMTD provoacă inhibarea respiraţiei microorganismelor din sol pe timp limitat. *Bacillus megaterium* var-*phosphaticus* pare deosebit de sensibil (Hulea şi colab., 1963; Radwan, 1965).

Preparatele pe bază de cupru s-au dovedit inhibitoare faţă de microflora saprofită a solului (Watson, 1966). Aceste substanţe, ca şi cele pe bază de mercur şi captan au inhibat unele microorganisme din sol (Kvarthelia, 1957; Iaroşevici şi Vlasova, 1960: Hulea şi colab.,

1963). Dintre compușii mercurici, acetatul fenilmercuric a avut un efect mai puternic chiar decît sublimatul corosiv (Van Faasen, 1973). În unele cazuri, captanul a favorizat creșterea numărului de bacterii din sol prin eliminarea completă a ciupercilor (Houseworth și Tweedy 1973).

Detergenții cationici sînt toxici pentru microfloră în concentrațiile uzuale. Celelalte categorii de detergenți au efect nociv numai la concentrații mult mai ridicate (Huddleston și Allred, 1967).

3.2. INFLUENȚA ASUPRA ACTINOMICETELOR

Din cercetările întreprinse pînă în prezent pe plan mondial se desprinde concluzia unanim acceptată că dozele uzuale de aminotriazine nu modifică numărul actinomicetelor din sol (Voderberg, 1961; Ghinea, 1964; Vasiliev și Enkina 1967). În ceea ce privește efectul dozelor mari, Voderberg și Maștakov afirmă că ele sînt de asemenea inofensive, în vreme ce Steinbrenner a observat un efect inhibitor destul de pronunțat.

Audus (1970) stabilește că actinomicetele sînt printre cele mai tolerante microorganisme la aminotriazine și pesticide în general.

În experiențele pe cernoziom mediu levigat de la Fundulea, (Ghinea, 1964), s-a urmărit efectul unor amino-s-triazine atît asupra numărului global de actinomicete, cît și asupra compoziției lor taxonomice. Se pare că modificarea cea mai importantă pe care tratamentul cu aminotriazine o produce asupra populației de actinomicete a solului o constituie stimularea seriilor de actinomicete ce formează pe mediu de cultură miceliu aerian cenușiu.

Breazele și Camper (1970) arată că erbicidul trifluralin din grupa *toluidinelor*, inhibînd bacteriile, creează condiții favorabile înmulțirii actinomicetelor.

3.3. INFLUENȚA ASUPRA CIUPERCILOR

Erbicidele pot inhiba microflora solului, inclusiv ciupercile parazite din sol. De aceea în S. U. A. Ministerul Agriculturii arată că aceste substanțe pot reduce infecția fungică a rădăcinilor de porumb și soia.

Experiențele efectuate pînă în prezent pe plan mondial au arătat că populația fungică a solurilor răspunde foarte divers la tratarea cu aminotriazine (Kaiser și colab., 1970). În experiențele lui Guillemat (1960); Virágh (1964); Steinbrenner și colab., (1961), dozele uzuale de triazine au fost inofensive.

Kliucinikov și colab., (1964); Vlahov și colab., (1972) găsesc o inhibare a ciupercilor din sol chiar în urma tratării cu 6 kg/ha simazin. Printre ciuperci, cele din genul *Trichoderma* suferă o reducere cantitativă și pierderea capacității de pigmentare.

Efectul aminotriazinelor asupra florei fungice a solului variază în funcție de tipul de sol (Cesalin și colab., 1962).

În experiențele efectuate pe cernoziomul mediu levigat de la I. C. C. P. T. — Fundulea, tratarea cu atrazin nu a modificat în general

Tabelul 46

Influența substanțelor fitofarmaceutice asupra actinomicetelor din sol

Categoria substanței fitofarmaceutice	Efectul fiziologic observat	Autorul observației
A. Aminotriazol	Inhibitor	Teutenberg, 1968
Simazin		
B. Derivați ureici	Fără efect	Voderberg, 1961; Doxtater, 1968; Fields și Hemphil, 1968
Meturin și Fluometuron	Inhibitor	Tulabaev, 1972
C. Carbamați	Inhibitor	Gheller și Hariton, 1961
Alipur, murbetol	Inhibitor	Nepomiluev și Kuziakina, 1965
D. Tiocarbamați	Inhibitor	Ciulakov și Jarasov, 1973
Cicloat	Inhibitor	
E.P.T.C.	Inhibitor	Rahimov și Rîdina, 1963; Jarasov, 1972
E. Pirazon	Fără efect	Mezharupe, 1967
F. Difenamid	Inhibitor	Mitkowski, 1972
G. Bipiridili	Stimulator	Tu și Bolen, 1968
H. Diclobenil	Fără efect	Nikolova și Bakalivanov, 1972
I. Fenoli substituiți	Fără efect	Pederson, 1952; Duda și Pedziwilk, 1952; Doxtater, 1968
J. Erbicidele fenoxiacetice	Ușor inhibitor	Baldacci și Amici, 1954; Nepomiluev și Kuziakina, 1965; Breazele și Camper, 1970
	Fără efect	Voderberg, 1961; Mitkovski, 1955; Fletcher și Smith, 1964; Doxtater, 1968; Fields și Hemphil, 1968
	Stimulator pentru actinomicetele rizosferice	Balasubramanian și Rangaswami, 1973
K. Dalapon	Fără efect	Magee și Colmer, 1952
L. Cianamida de calciu	Fără efect	Doxtater, 1968
cloraţi de sodiu și potasiu	Fără efect	Doxtater, 1968; Fields și Hemphil, 1968; Nilsson, 1951; Marki și colab., 1973
M. Insecticide organoclorinate	Fără efect	Pochon și Lajudie, 1948; Drui și colab. 1971
N. Insecticide dienice	Inhibitor	Gawad, Hammad și Gayar, 1972; Shamiyeh și Johnson, 1973
O. Insecticide organofosforice	Stimulator	Gunner și colab., 1966 Swaminathan și Sullia, 1969; Naumann, 1970
P.P.C.N.B. (pentaclor nitrobenzen)	Inhibitor	Voderberg, 1961; Ko și Failey, 1968
Pentaclor fenol	Fără efect	Ishizawa și Matsuguki, 1966.
R. Fumiganți și fungicide	Foarte toxici (în special Thiram și DD)	Audus, 1970

numărul de ciuperci din sol. Au fost totuși stimulate ciupercile aparținînd genurilor dominante *Penicillium* și *Aspergillus*, cunoscute pentru capacitatea lor de a metaboliza aminotriazinele și inhibate ciupercile din genurile *Fusarium* și *Trichoderma*.

Tratarea cu simazin (fig. 62) a produs o sporire importantă a numărului de ciuperci din sol, timp de 150 de zile de la tratare.

Scanned with OKEN Scanner

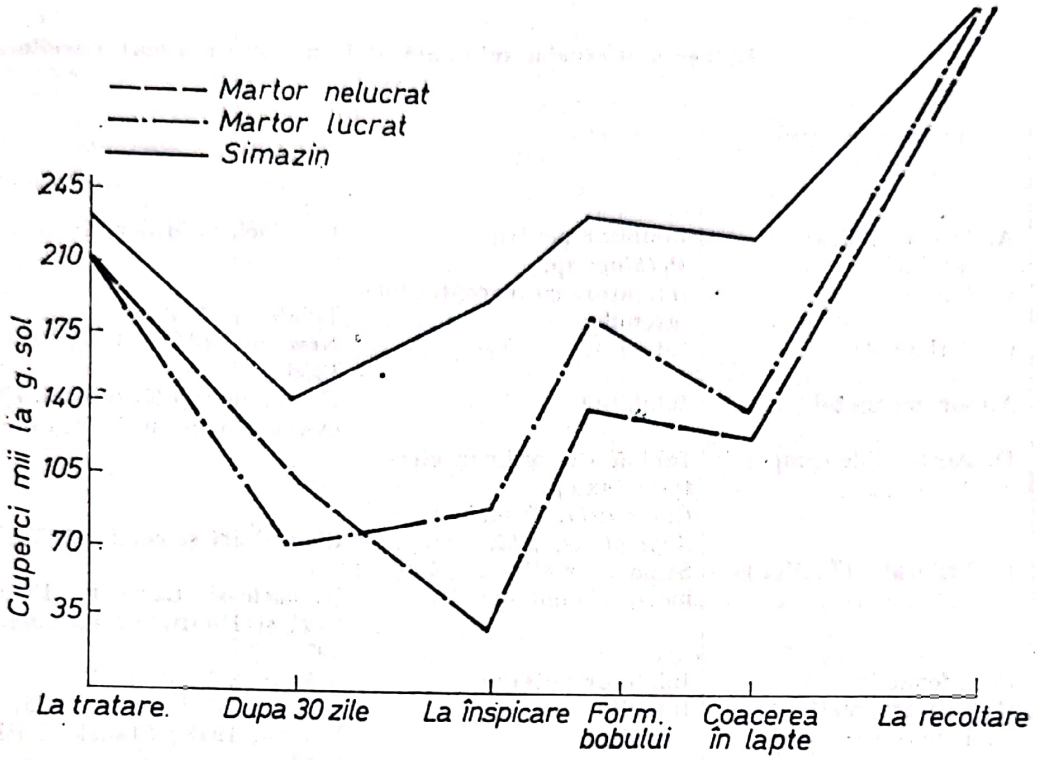


Fig. 62. Influența simazinului asupra microflorei solului (după Ghinea, 1966)

Acest efect stimulator poate fi pus în legătură cu inhibarea ciupercilor antagoniste din genul *Trichoderma*. Kavoliunaite și Spokauskas (1974) confirmă aceste date pentru prometrin.

Curl și Funderburck (1965) observă că triazinele reduc infecția culturilor cu *Sclerotium rolfsii* stimulînd antagoniștii ciupercii din sol.

Pentru practică este important faptul că ciupercile micorizice nu sînt inhibate de triazine (Pantos, 1964; Uhlig, 1966).

Se apreciază că substituenții ureei au oarecare proprietăți fungistatice (Audus, 1970). Ar avea loc de asemenea o modificare a raporturilor dintre genuri, fiind, ca și în cazul triazinelor, favorizat *Penicillium*, în dauna ciupercilor *Fusarium* (Sciar și colab., 1961; Kaufman, 1964) și *Septoria apii*.

S-a observat de mai multă vreme că preparatul diuron reduce infecția grîului cu *Cercosporella herpotrichoides*. Preparatul a contribuit la sporirea recoltei prin combaterea buruienilor cu 2,5 — 10 hl/ha, iar ținînd seama de efectul fungicid — cu 43 hl/ha (Huber și colab., 1968).

Monuronul a mărit de asemenea rezistența plantelor la unele ciuperci parazite—(*Helminthosporium sativum*, *Alternaria solanii*, *Fusarium oxysporium*, *F. lycopersici*-Richardson, 1957).

Ca și erbicidele ureice, carbamații inhibă ciupercile din sol (Newman, 1947; Chappell și Miller, 1956). Desigur și erbicidele combinate care conțin carbamați-alipur și murbetol — sînt inhibitoare (Nepomiluev și Kuziakina, 1965; Isaeva și Novogrudskaia, 1966).

Tabelul 47

Influenţa diferitelor substanţe fitofarmaceutice asupra micoflorei solului

Categoria substanţei fitofarmaceutice	Efectul fiziologic observat	Autorul observaţiei
A. Diazine-hidrazidă maleică	Inhibitor pentru *Pythium* sp.	Grenloch şi Miller, 1956
B. Ureice	Inhibitor, cu excepţia noruronului	Tulabaev, 1972
C. Carbamaţi	Inhibitor	Newman, 1947; Chapell şi Miller, 1956
Alipur, murbetol	Inhibitor	Nepomiluev şi Kuziakina, 1965; Isaeva şi Novogrudskaia, 1966
D. Acetanilide (propanil)	Inhibă (în ordinea efectului toxic): *Curvularia, Fusarium Aspergillus, Rhizopus*	Chowdhuri şi colab., 1972
E. Triluralin (Treflan)	Stimulator stimulează formarea clamidosporilor	Breazele şi Camper, 1970; Tang-Curl şi Rodriguez Kabana, 1970
F. Difenamid	Inhibitor puternic	Mikovski, 1970, 1972
G. Tiolcarbamaţi	Inhibitor	Ciulakov şi Jarasov, 1973,
H. Fenoli substituiţi	Inhibitor	Verona, 1948; Stanek şi Ridky, 1953
	Inhibitor puternic pentru *Mucoraceae*	Jensen şi Pederson, 1952 Duda şi Pedziwilk, 1952
D.N.B.P.	Puternic inhibitor	Colmer, 1954; Vedros şi Colmer, 1959
	Puternic inhibitor pentru ciupercile fitopatogene	Chappel şi Miller, 1956; Richardson, 1957; 1959.
I. 2,3,6 T.B.A.	Stimulator	Gamzikova şi Sviatskaia, 1968
J. Nitrofen	Inhibă (în ordinea efectului toxic): *Curvularia, Fusarium, Aspergillus, Rhizopus*	Chowdhuri şi colab., 1972
K. Bromoxinil, Ioxinil	Inhibitoare pentru *Aspergillus niger* şi *Alternaria solani*	Mikovski, 1970
Diclobenil	Fără efect	Nikolova şi Bakalivanov, 1972
L. Bipiridili	Puternic inhibitor (mai ales faţă de cele celulolitice)	Szegy, 1970
	Inhibitor la doze mari limita toxică-112 kg/ha (alte date 0,25 — 50%)	Rodriguez-Kabana şi colab., 1973; Camper şi colab., 1973
M. Dalaponul	Uşor stimulator	Magee şi Colmer, 1962; Voderberg, 1961
N. Alcool alilic	Stimulează *Trichoderma*, inhibînd pe această cale ciupercile care provoacă putrezirea seminţelor (*Pythium, Rhizoctonia*)	Popa şi Drimuş, 1973
Dactal	Stimulator	Tulabaev, 1972

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 47 (continuare)

Categoria substanței fitofarmaceutice	Efectul fiziologic observat	Autorul observației
O. J. Vapam, Mylon	Inhibitor	Nauman, 1970
P. Detergenți	Inhibitor, mai ales cei anionici	Lee, 1970
R. Insecticide organoclorinate	Fără efect	Roberts și Bollen, 1955; Eliade și Ghinea, 1961
DDT	Inhibitor selectiv pentru unele ciuperci	Varshney și Gaur, 1972
Insecticide dienice	Inhibitor	Chiran, 1953; Drui și colab., 1971; Gawaad și colab., 1972
Ș. Insecticide organofosforice	Inhibitor	Gawaad și colab., 1972
	Inhibitor pentru *Fusarium* și *Alternaria*	Nauman, 1970; Varshney și Gaur, 1972
T. Fungicidele	Foarte toxice, mai ales cele cu mercur și cupru	Watson, 1966
Benomyl	Fără efect	Kaastra-Höweler și Gams, 1973
Tiram, captan	Doza minimă toxică 10 ppm (remanență 108 zile)	Houseworth și Tweedy, 1973

În general 2,4 D și omologii săi stimulează înmulțirea ciupercilor în sol (Newman și Downing, 1958; Iurkevici și Tolkacev, 1972). Stevenson și Mitchel (1945) au stabilit limita de toxicitate a 2,4 D pentru ciuperci la 0,08 %.

Erbicidele 2,4 D și MCPA favorizează în concurența pentru hrană unele ciuperci — *Aspergillus niger* — Calancea și Illyés, 1954), față de altele (*Penicillium notatum*) și alături de alte erbicide (dalapon, dinoseb) micșorează rezistența în sol a ciupercii parazite *Ophiobolus graminis* (Wilkinson și Lukas, 1969). Erbicidul bipiridilic paraquat (Gramoxone) favorizează acest parazit, ca și pe *Fusarium culmorum*, iar 2,4 D reduce frecvența sa în sol și infecția pe rădăcinile de grîu (Kacialina și Iațenko, 1974). Ciorlăuș (1975) constată că trifluralinul inhibă mucegaiurile de pe semințele de soia, în timp ce clorambenul le stimulează.

Fungicidele provoacă o „depresiune marcată și caracteristică populației fungice a solului, unele specii fiind complet eliminate". (Audus, 1970). *Fusarium oxysporum* și *Pythium* sînt cu deosebire sensibile (Valaskova, 1967).

Fumiganții reduc, de asemenea, drastic, timp de peste 7 luni, micoflora solului (Ridge și Theodoru, 1972).

3.4. INFLUENȚA ASUPRA ALGELOR

În calitate de organisme verzi, acestea sînt deosebit de sensibile la erbicide, între care aminotriazinele (Lawrence, 1972), depășind cu mult celelalte microorganisme. Foarte sensibile sînt: *Cladophora*, *Spyrogyra*, *Pitophora*. Pentru *Chlorella* limita de sensibilitate a fost de 0,5 ppm

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 48

Efectul erbicidelor asupra algelor din sol

Categoria de erbicide	Efectul fiziologic	Autorul observației
Aminotriazol	Toxic la doze > 64 ppm	Caseley și Eno, 1966
Substituenți ai ureei	Toxic la doze > 0,5 ppm	Th. Beck, date nepublicate; Caseley și Eno, 1966
	Toxic mai ales pentru alga *Stichococcus bacillaris*	Reed și colab., 1965; Sivasithamparam, 1970
Dymid (Difenamid)	Toxic la doze > 64 ppm	Caseley și Eno, 1966
Fenoli substituiți	Stimulator	Balezina, 1967
Paraquat (Gramoxone)	Inhibitor	Caseley și Eno, 1966
Endothal	Inhibitor	Caseley și Eno, 1966
Derivați fenoxi-acetici	Fără efect	Stina, 1957; Verona, 1958
	Inhibitor în doze mari pentru diatomee și alge albastre	Stina, 1957
M.C.P.A.	Stimulator pentru *Cyanoficeae*	Balezina, 1967
T.C.A.	Inhibitor	Balezina, 1967
Cianamida de calciu	Inhibitor	Ishizawa și Matusuguki, 1966

(Atkin și Chan, 1967), dar alga se poate adapta la prezența toxicului, așa cum se adaptează bacteriile la antibiotice (Cho și colab., 1972).

Kaiser și Reber (citați de Kaiser și colab., 1970) au găsit că simazinul a redus de la 250 mii la 1,5 mii numărul algelor din rizosfera porumbului. Deosebit de sensibile sînt algele albastre (Balezina, 1967).

Molinatul (din grupa tiolcarbamaților), atunci cînd este aplicat în orezării inhibă algele albastre fixatoare de azot, în timp ce 2,4 D și dalaponul sînt tolerate (Venkataraman și Rajalakshmi, 1972).

Dintre erbicidele hormonale, derivații fenoxibutirici sînt mai toxici decît cei fenoxiacetici, adică invers decît se întîmplă la plantele superioare (Shennan și Fletcher, 1965; Fletcher și colab., 1970).

Fungicidul ditiocarbamic nabam inhibă algele albastre, în timp ce insecticidele organoclorinate le inhibă mai ales pe cele verzi. DDT-ul reduce cu 50% activitatea fotosintetizantă a fitoplanctonului. Dat fiind răspîndirea acestui insecticid, ca și faptul că fitoplanctonul reprezintă principala sursă de materie organică a pămîntului (între care hrana peștilor, ce interesează direct omul), se poate aprecia că acesta este cel mai periculos fenomen legat de poluarea cu DDT.

3.5. INFLUENȚA ASUPRA FAUNEI

Fauna solului este în măsură redusă afectată de numeroase pesticide. În schimb insecticidele, introduse în sol pentru a distruge insectele parazite, au de obicei un spectru mai larg de acțiune, afectînd puternic și unele grupe de animale folositoare din sol. Insectele carnivore, utile pentru că se hrănesc cu dăunători ai culturilor agricole, fiind mai mobile decît insectele

Scanned with OKEN Scanner

parazite, sînt mai puternic afectate de insecticide. Pentru a se reface, insectele prădătoare au nevoie să crească mai întîi numărul insectelor fitofage. Din acest motiv, tratarea cu insecticide poate fi urmată tocmai de creșterea numărului de dăunători ca urmare a distrugerii dușmanilor naturali ai acestora (Griffith și colab., 1970). Satchell (1955), într-o sinteză a literaturii care se referă la influența insecticidelor asupra faunei solului, constată totuși că insecticidele organoclorinate au o influență limitată asupra acesteia. Rîmele sînt în general rezistente la acțiunea insecticidelor organoclorinate (Edwards și colab., 1967), în timp ce protozoarele sînt sensibile (Mc Rae și Vinckx, 1973). Dintre aceste insecticide DDT pare cel mai puțin periculos (van. Dinther, 1963), Tarța și colab. (1972) constată că lindanul inhibă protozoarele, nematodele și coleopterele din sol.

O deosebită periculozitate prezintă tratarea repetată cu insecticide. În acest caz are loc o sărăcire continuă a solului în insecte (van der Bund, 1965). De asemenea periculoasă este și practica tratării simultane a unor suprafețe mari (spre exemplu pentru a putea împrăștia insecticidele din avion). În acest caz nu mai există zone de refugiu și repopulare și fauna de insecte este redusă drastic (Bîzova, 1969). Edwards și colab., (1967) constată că insecticidele epoxidice se comportă în general analog DDT. Ele sînt însă mai periculoase pentru insectele prădătoare (van Dinther, 1963; Domidontova, 1973). Spencer (1971) constată că insecticidele organofosforice și carbamice inhibă mult mai puternic insectele din sol. În cazul tratării cu insecticide organofosforice sînt de așteptat modificări taxonomice de durată ale faunei solului (Fox și colab., 1967; Long și colab., 1967), mai slabe în cazul celor carbamice (Stegeman, 1964).

De obicei, erbicidele nu influențează fauna solului (Dzuiba, 1971). Dacă prin distrugerea vegetației crește cantitatea de resturi organice, atunci crește numărul rîmelor (Edwards și colab., 1971). Caseley și Eno (1966) constată un efect inhibitor indirect față de rotiferi al aminotriazinelor. Acestea suprimă algele care servesc rotiferilor ca hrană. Probabil că tot astfel se explică și unele reduceri observate la grupe de insecte fitofage, la rîme și enchitreide (Fryer și Evans, 1968). Rezultate asemănătoare s-au observat la tratarea cu derivați ureici, difenamid paraquat, endothal, dalapon și erbicide fenoxiacetice. Firește că DNOC care este în același timp erbicid și insecticid, este foarte toxic pentru fauna de insecte a solului.

S-a observat că în general erbicidele (MCPA, DNOC) stimulează nematozii paraziți în raport cu cei saprofiți. Rao și Prasad (1969) constată creșterea daunelor provocate de nematozi la tomate în urma tratării cu EPTC, 2,4 D și MCPB. Dimpotrivă, paraquatul a redus frecvența nematozilor paraziți (Corbett și Webb, 1970).

O problemă care îngrijorează pe ecologi în ultimele decenii este tendința toxicelor de a se concentra în lungul lanțurilor trofice. În acest sens fenomenul cel mai tipic îl constituie tendința DDT și al altor insecticide organoclorinate de a se concentra în țesuturile grase ale insectelor (Gish, 1970) și rîmelor (Davis, 1968). În corpul rîmelor DDT poate atinge o concentrație de 40 ppm. Păsările care se hrănesc cu rîme și insecte concentrează

Scanned with OKEN Scanner

la rîndul lor insecticidul care poate astfel atinge concentraţia de 164 ppm. În aceste condiţii fauna de păsări este serios primejduită, aşa cum s-a demonstrat în numeroase cercetări (van der Drift, 1970).

3.6. SUBSTANŢELE FITOFARMACEUTICE ŞI CIRCULAŢIA CARBONULUI ÎN SOL

Domsch (1972) a emis ipoteza că, întrucît numărul de enzime care participă la descompunerea unei substanţe organice este cu atît mai mare cu cît aceasta are o moleculă mai complexă, creşte în mod corespunzător şi şansa ca una din enzime să fie blocată de pesticide, iar descompunerea substanţei — oprită. Lucrînd cu captan el a demonstrat experimental această ipoteză, cu care concordă de altfel marea majoritate a datelor din literatură mondială.

Astfel s-a demonstrat că triazinele inhibă celuloliza (Amantaev şi colab., 1963; Husanova, 1972 etc.), reducînd-o cu peste 80 % din intensitate (Sosnovskaia şi Pascenko, 1965). După inhi-

Tabelul 4

Efectul erbicidelor asupra activităţii celulolitice a solului

Categoria de erbicide	Efectul fiziologic observat	Autorul observaţiei
A. Substituenţii ureici	Stimulator	Rankov, 1970; Sivasithamparam, 1970 Tulabaev, 1972
	Inhibitor	Hugé, 1970; Tulabaev şi Azimbegkov, 1967
B. Carbamaţi	Fără efect	Scliar şi colab., 1958; Gheller şi Hariton, 1961; Audus 1970
Alipur	Inhibitor	Novogrudskaia şi colab., 1965
Murbetol	Inhibitor	Novogrudskaia şi colab., 1965
C. Acilanilide	Stimulator limita toxică 14—50 ppm	Rankov, 1970; Lembeck şi Colmer, 1962
D. Amide	Inhibitor	Rankov, 1970
E. Toluidine	Stimulator	Rankov şi Elenkov, 1970
F. Derivaţi benzoici (cloramben; 2, 3, 6, T.B.A., Dicamba şi Tricamba)	Limită toxică 1000 ppm	Rankov, 1970
G. Bipiridil	Slab inhibitor	Lembeck şi Colmer, 1962 Andersen, 1969 Giardina şi colab., 1970
H. Fenoli substituiţi	Fără efect Fără efect. Inhibitor pentru *Cytophaga* la doza 40 ppm	Rankov, 1970 Rankov, 1970 Jensen şi Pedersen, 1952; Duda şi Pedziwilk, 1952 Nepomiluev şi colab., 1967
I. Nitrofen	Fără efect	Rankov, 1970
J. Derivaţi ai acizilor fenoxiacetici	Fără efect	Goarine şi Didier de Saint. Amand, 1957; Döbereiner şi da Cruz Paixao, 1965; Schönbek, 1965
K.T.C.A.	Fără efect	Audus, 1970
L. Dactal	Inhibitor	Tulabaev, 1972

Scanned with OKEN Scanner

bare urmează uneori o perioadă de stimulare (Spiridonov și Iakovlev, 1968; Vasiliev și Enkina, 1968).

Inhibarea celulolizei nu are loc în toate solurile (Virágh, 1964; Mișustin, 1964). Ghinea (1966) observă că inhibarea celulolizei are loc numai în cazul în care acest proces este realizat de microorganismele cele mai active, bacterii sensibile la triazine : *Sporocytophaga* (Lembeck și Colmer, 1962) și *Cellvibrio* (Pochon și colab., 1960), așa cum se întîmplă în solurile cernoziomice. În solurile acide în care descompunerea are loc lent, fiind realizată de către ciuperci, se poate înregistra chiar o stimulare a celulolizei.

Efectul toxic durează 30—70 de zile, corectivul cel mai potrivit fiind îngrășarea cu paie (Pochon și colab., 1960; de Vries, 1963; Rankov, 1970). Rezultatele cele mai bune se obțin cu gunoi de grajd, care pe lîngă aportul de celuloză are avantajul că reînsămînțează solul cu microorganisme din genul *Cytophaga*.

Insecticidele hexatox, aldrin au inhibat micoflora celulolitică aerobă a cernoziomului mediu levigat de la Fundulea (tab. 50). Naumann, (1971) confirmă aceste date. Insecticidele organofosforice sînt considerate în general nepericuloase pentru microorganismele celulolitice. Pentru paration de exemplu, doza toxică a depășit de 70 de ori doza practică.

Fungicidele, fumiganții și *nematocidele* sînt foarte toxice pentru micoflora celulolitică (Le Borgne, 1966; Audus, 1970). Printre aceste substanțe, DD, la doze normale suprimă complet micoflora celulolitică.

Micoflora pectinolitică a solului a fost puternic stimulată de tratarea cu unele insecticide, ca de exemplu DDT (Bogdarina, 1961).

Microorganismele amilolitice sînt inhibate de unele erbicide (clorat de sodiu — Karg, 1965) și nematocide (DD, cloropicrina, nemagon etc., Le Borgne, 1966).

Tabelul 50

Influența insecticidelor asupra numărului microorganismelor celulolitice aerobe (în mii/g sol) din cernoziomul de la Fundulea (după Eliade și Ghinea, 1961)

Data recoltării probelor	Varianta	Numărul microorganismelor celulolitice aerobe
La 48 de ore de la tratare	V_1—Martor	10,5
	V_2—Hexatox 3%—50 kg/ha	10,1
	V_3—Aldrin 20%—30 kg/ha	10,2
La 60 zile de la tratare	V_1—Martor	10,2
	V_2—Hexatox 3%—50 kg/ha	6,4
	V_3—Aldrin 20%—30 kg/ha	7,3
La 120 zile de la tratare	V_1—Martor	11,3
	V_2—Hexatox 3%—50 kg/ha	5,5
	V_3—Aldrin 20%—30 kg/ha	8,4

Scanned with OKEN Scanner

3.7. SUBTANȚELE FITOFARMACEUTICE ȘI CIRCULAȚIA AZOTULUI ÎN SOL

3.7.1. Fixarea biologică a azotului atmosferic

Printre verigile importante legate de circulația azotului în sol, trebuie considerat în primul rînd procesul fixării biologice a azotului.

Numeroase lucrări s-au referit la efectul aminotrizinelor asupra numărului și activității bacteriilor fixatoare de azot. Unii autori au observat o inhibare a fixatorilor de azot sub acțiunea simazinului (Kolceva și Markova, 1964; Takáts, 1965) sau a prometrinului (Mastakov și colab., 1962). Amantaev și colab., (1963), Rankov și colab. (1966) nu au observat inhibarea fixatorilor de azot decît în cazul încorporării dozelor mari de triazine. Un efect nefavorabil poate apare datorită unor cauze indirecte (Tulabaev și Azimbegkov, 1967).

Pochon și colab., (1960), Guillemat și colab. (1960), Helmeczi (1965), Kvasnikov și Ciulakov (1960), Malamina și Nikitin (1971), au găsit chiar că aminotriazinele au produs o ușoară stimulare a bacteriilor din genul *Azotobacter*. Guillemat și colab. (1960) au observat o creștere a numărului de celule de *Azotobacter* în solul tratat cu simazin. Unii autori presupun și o stimulare a fixării azotului în sol, considerînd pigmentarea mai intensă a coloniilor de *A. chroococcum* obținute din solul tratat, caracter ce se corelează cu randamentul fixării (Pochon și de Barjac, 1958).

În experiențele efectuate pe cernoziom mediu levigat de la Fundulea nu s-a observat nici o influență a atrazinului asupra numărului și compoziției taxonomice a fixatorilor de azot, dar s-a observat că în solul tratat cu aminotriazine (tab. 51), azotul molecular este mai intens fixat. S-a observat de asemenea că în prezența aminotriazinelor culturile de *Azotobacter chroococcum* din solul de la Fundulea pigmentează mai intens, ceea ce atestă o mai bună fixare a azotului.

Este necesar însă să se facă unele rezerve: fixarea mai intensă a azotului în prezența aminotriazinelor are loc numai în cazul cînd în sol există suficient material energetic. Nu aceasta pare a fi în mod obișnuit

Tabelul 51

Capacitatea fixatoare de azot a solului tratat cu erbicide triazinice în ppm (după Ghinea, 1966)

Varianta	Azot fixat în solul recoltat la 48 ore după tratare	Azot fixat în solul recoltat la 30 zile după tratare
Martor	470	170
Atrazin 10 kg/ha	850	810
Simazin 10 kg/ha	980	890
Prometrin 10 kg/ha	600	920

Scanned with OKEN Scanner

cazul solurilor tratate cu erbicide triazinice : în aceste soluri are loc, după cum am văzut, o inhibare a algelor și o incetinire a celulolizei. Aceste fenomene duc probabil la o carență de material energetic accesibil fixatorilor de azot din solurile tratate.

Erbicidele fenoxiacetice au fost considerate ca inofensive față de fixatorii de azot (F l i e g , 1952 ; N e w m a n și D o w n i n g , 1958), S c l i a r și colab., (1961) arată însă că în prezența 2,4 D este inhibată înmulțirea celulelor de *Azotobacter*, activitatea lor dehidrogenazică și capacitatea de a fixa azot.

Influența acestor erbicide depinde de doză, toxicitatea apărînd numai la doze mari (K o z l o v a și D i k a r e v a , 1963). *Azotobacter chroococcum* este mai sensibili la erbicide fenoxiacetice decît *A. agilis*, (C o l m e r , 1953 ; R u b e n c i k , 1960). Rezistența la compușii fenoxiacetici crește prin adaptare (C o l m e r , 1954).

Acțiunea inhibitoare a erbicidelor fenoxiacetice asupra *A. vinelandii* depinde de concentrația ionilor de magneziu din sol (J o h n s o n și C o l m e r , 1957).

Tabelul 52

Influența substanțelor fitofarmaceutice asupra fixării libere a azotului în sol

Categoria de substanțe fitofarmaceutice	Efectul fiziologic observat	Autorul observației
Diazine (hidrazidă maleică) Substituenții ureii	Fără efect Efect inhibitor	Hauke-Paczewikowa și Krolowa,1968 Dommergues și Mangenot, 1970 ; Sivasithamparam, 1970 ; Wegrzyn, 1971 ; Tulabaev, 1972
Carbamați	Fără efect	Șcliar și colab., 1958 ; Rankov și colab., 1966
Tiocarbamați	Stimulativ	Mațneva și Semihatova, 1973
Ioxinil	Fără efect	Hauke-Paczewikowa și Krolowa, 1968
Trifluralin	Fără efect	Hamdy și Tewfik, 1969
Dicamba	Inhibitor	Kozirev și Laptev, 1972
Fenoli substituiți	Puternic inhibitor	Colmer, 1954 ; Rankov și colab., 1966
Acizi alifatici halogenați	Fără efect	Duda și Pedziwilk, 1952 ; Kratochwil, 1951 ; Colmer, 1954 ; Voderberg, 1961 ; Rahimov, 1963
Dactal	Inhibitor	Tulabaev, 1972
Borat de sodiu	Inhibitor	Nilson, 1951
Insecticide organoclorinate	Stimulator	Pochon și Lajudie, 1948 ; Sazonov, 1948 ; Kotelev, 1952 ; Bogdarina, 1961 ; Mahmoud și colab., 1970
Insecticide organofosforice	Puternic inhibitor	Abulghar, 1970 ; Naumann 1970 ; Sivasithamparam, 1970
Fungicide cu mercur și cupru	Puternic inhibitor	Kvarțhelia, 1957 ; Iarosevici și Vlasova, 1960 ; Hulea, Eliade și Ghinea, 1963
Nematocide	Inhibitor	Le Borgne, 1966 ; Naumann, 1970

Scanned with OKEN Scanner

Toxicitatea lor pentu *Azotobacter* creşte în prezenţa fosforului anorganic, ceea ce demonstrează interferenţa erbicidelor în metabolismul fosforului (trebuie să arătăm că erbicidul interferă în fosforilare la plantele superioare şi animale).

Toxicitatea poate fi redusă prin adaos de magneziu, ceea ce permite să se considere că mecanismul inhibitor ar consta într-o chelatizare a magneziului în prezenţa fenoxiacizilor. Urmează o carenţă a ionilor de magneziu, indispensabili enzimelor fosforilante.

Din seria erbicidelor fenoxiacetice cel mai toxic pentru *Azotobacter* este 2,4,5 T. MCPA a fost toxic în unele cazuri pentru *Azotobacter* (Scliar, 1961), dar alte ori tratarea nu a avut influenţă (Rankov şi colab., 1966).

Szegy şi colab. (1974) au constatat sensibilitatea deosebită a *A. chroococcum* faţă de paraquat (Gramoxone).

Bacteriile simbiotice fixatoare de azot servesc la producerea preparatului Nitragin, care se aplică la culturile de leguminoase. De aceea influenţa pe care pesticidele o exercită asupra acestor microorganisme va fi descrisă în capitolul privitor la folosirea în agricultură a bioprepa-ratelor.

3.7.2. Amonificarea şi nitrificarea

Procesele care duc la acumularea în sol a azotului mineral necesar plantelor superioare şi relaţiile lor cu substanţele fitofarmaceutice introduse în sol s-au bucurat, după cum este şi firesc, de cea mai mare atenţie. În tab. 53 se prezintă cîteva date mai importante cu privire la amonificare.

Nitrificarea îndeosebi este apreciată de Dommergues şi Mangenot (1970) ca un proces deosebit de sensibil la acţiunea substanţelor toxice. Inhibarea pe timp limitat a nitrificării este un fapt general admis (Purna, 1964; Grossbard, 1972; Lobanov şi Poddubnaia, 1967; Tulabaev şi Azimbegkov, 1967; Rankov, 1968; Berthold, 1970). Apltauer şi Skoplikova (1966) şi Farmer şi colab., (1965) au stabilit limita de toxicitate a triazinelor la numai 6 ppm. O valoare apropiată (2 kg/ha) a fost găsită de Arsidinov (1971). Atrazinul s-a dovedit mai toxic decît simazinul (Fisiunov, 1969), probabil datorită solubilităţii mai mari.

Oxidarea nitritului nu este afectată, dar bacteriile din genul *Nitrosomonas* sînt inhibate selectiv. Acţiunea inhibitoare durează 30—35 de zile (fig. 63), în care timp în solul tratat cu peste 6 ppm triazine se acumulează nitriţi.

Rezultate similare s-au obţinut în experienţele de pe cernoziomul mediu levigat de la Fundulea şi pe solul brun de la Ştefăneşti-Argeş. Preparatele atrazin, simazin şi Saminol au inhibat foarte semnificativ nitrificarea amoniului. Pentru Saminol, inhibarea a fost proporţională cu doza (fig. 64).

După 5 săptămîni de la tratare, între martor şi probele tratate nu mai există diferenţe, cantitatea de nitraţi în probele tratate avînd doar o

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 53

Influența substanțelor fitofarmaceutice asupra amonificării

Categoria de substanțe fitofarmaceutice	Efectul fiziologic	Autorul observației
Triazine	Ușor stimulativ	Dommergues și Mangenot, 1970 Pochon și colab., 1960 Guillemat și colab., 1960; Steinbrenner și colab., 1960; Dubovska și colab., 1964; Szabone,1964; Nepomiluev și colab., 1965; Ghinea, 1966.
Carbamați	Fără efect	Tulabaev și Azimbegkov, 1967
Substituenții ureei	Ușor stimulativ	Nepomiluev și Kuziakina, 1965; Sivasithamparam, 1970.
Bipiridili	Fără efect	Tu și Bollen, 1968.
Pirazon	Fără efect la doze de 4— 40 pp m	Apltauer și Skoplikova, 1966.
Trifluralin	Stimulator	Rankov și Elencov, 1970.
Fenoli substituiți	Stimulator	Scliar și colab., 1961.
Benzonitrili	Fără efect	Helweg, 1972.
T.C.A.	Inhibitor la doza de 32 kg/ha	Gheller și Hariton, 1961.
Dalapon	Efect variabil	Morita și Akoi, 1952
Erbicide fenoxi-acetice	Stimulator	Bakalivanov și Nilova, 1969.
Cianamida de calciu	Stimulator	Remy, 1907.
Dactal	Inhibitor	Tulabaev, 1972.
Clorat de sodiu	Fără efect	Audus, 1970.
Insecticide organo-clorinate	Fără efect	Pochon și Lajudie, 1948; Duda, 1952.
Insecticide dienice	Inhibitor	Gawaad și colab., 1972
Nematocide	Fără efect	Le Borgne, 1966.
Vapam	Puternic inhibitor	Roa, 1963; Audus, 1970.

ușoară tendință de creștere în comparație cu martorul (datorită probabil consumului mai mare de amoniu în etapa anterioară) Coic și Lessint (1971), Ivanov (1974), Belobrov (1974) confirmă aceste date.

Ghinea și colab., (1966) au arătat că revenirea în limite normale a nitrificării în solurile tratate se datorește adaptării bacteriilor nitrificatoare la triazine, chiar atunci cînd în sol mai există cantități importante de toxic nedescompus. Această constatare, surprinzătoare dacă se are în vedere metabolismul foarte spe-

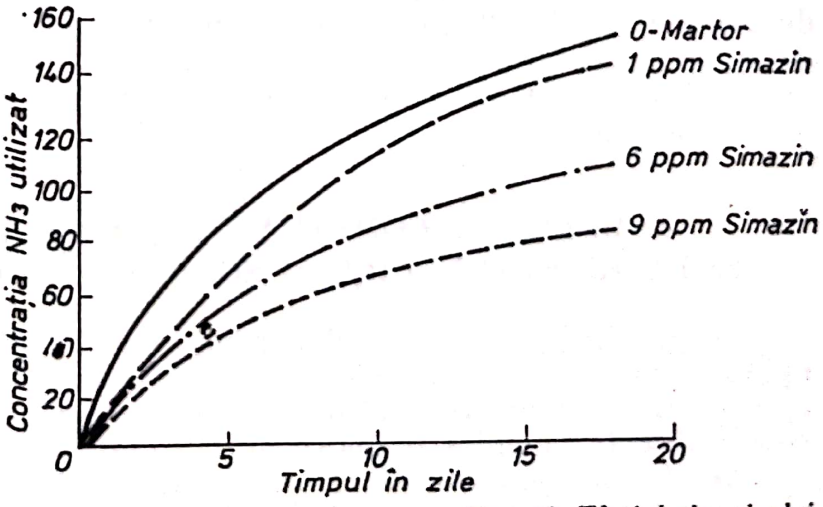


Fig. 63. Efectul simazinului asupra nitrificării amoniului (după Farmer și colab., 1965)

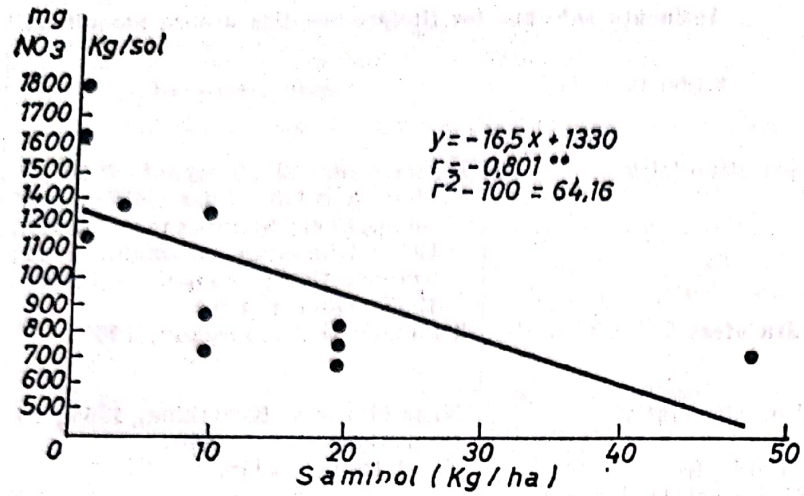


Fig. 64. Corelaţia dintre capacitatea de nitrificare şi cantitatea de Saminol, după două săptămîni de la aplicarea erbicidului pe un sol brun (după Ghinea şi Caramete, 1970)

cializat al bacteriilor nitrificatoare, a fost confirmată de către Debona şi Audus (1970).

În multe cazuri nu s-a observat inhibarea nitrificării de către triazine (Pochon şi colab., 1960; Guillemat şi Montegut, 1960; Steinbrener şi colab., 1961; Eno, 1962; Maştakov şi colab., 1962; Mitkowski, 1964; Kolceva şi Markova, 1964; Nepomiluev şi colab., 1965; Amantaev şi colab., 1968). Smith şi Weerartna (1974) au reuşit recent să explice această aparentă neconcordanţă. Ei au demonstrat că efectul se datoreşte stimulării nitrificării heterotrofe (probă că N-Serve, care blochează nitrificarea autotrofă nu afectează acest proces). Stimularea se datoreşte faptului că principalul agent al nitrificării heterotrofe, *Aspergillus niger* poate folosi triazinele în metabolism, fiind din această cauză stimulat (Ghinea, 1966).

Apare deci o deosebire fundamentală între efectul triazinelor în cernoziomuri (în care atît celuloliza, cît şi nitrificarea sînt inhibate) şi în podzoluri (în care ambele procese sînt stimulate).

După cum se vede (tab. 54), numeroase substanţe fitofarmaceutice inhibă nitrificarea o perioadă oarecare. Apare deci problema repercusiunilor asupra plantelor superioare. La prima vedere s-ar putea răspunde că ele vor fi întotdeauna negative, dat fiind că nitraţii sînt principala sursă de azot a plantelor. Totuşi, deoarece plantele pot folosi şi azotul amoniacal (mai stabil în sol) uneori acest fenomen poate fi avantajos, iar erbicidele pot juca şi rolul de inhibitori ai nitrificării, în sensul în care s-a arătat în capitolul V.

4. EFECTUL COMBINAT AL TRATĂRII CU ERBICIDE ŞI REDUCERII LUCRĂRII SOLULUI ASUPRA MICROFLOREI

Scopul utilizării erbicidelor fiind reducerea numărului de lucrări aplicate solului, este foarte interesant pentru practică să se poată aprecia dacă există eventual o interacţiune între substanţa chimică folosită şi absenţa mobilizării mecanice a solului.

Se ştie că lucrarea solului antrenează schimbări în regimul aer-apă al solului, afectează compoziţia floristică a fitocenozei ce creşte la suprafaţa sa. De aceea, Walter (1971) apreciază că schimbările provocate

Tabelul 54

Influența substanțelor fitofarmaceutice asupra nitrificării

Categoria de substanțe	Efectul fiziologic observat	Autorul observației
Benthazon	Fără efect	Jung, 1972
Aminotriazol	Inhibitor 60 zile	Reid, 1959; Mitsui și colab., 1962; Chandra Purna, 1964; van Scherven și colab., 1970; Chiriță și Ghinea, 1972
Substituenții ureici	Inhibitor	Quastel și Scholefield, 1953; Caseley și Luckwell, 1965; Dubey, 1969 Grosbard, 1971; de Gournay, 1971 Ruban, 1973; Chiriță și Ghinea, 1972; Găldean, 1974
	Inclusiv produși de metabolism	Corke și Thomson, 1970
Monuron	Limită toxică 25 ppm	Alexander, 1969
Carbamați	Puternic inhibitor	Quastel și Scholefield, 1953; Hale și colab., 1957; Fryer și Evans, 1968; de Gournay, 1971; Sommer, 1970; Lobanov și Poddubnaia, 1967
C.I.P.C.	Limită toxică 12 ppm	Winely și San Clemente, 1970 Alexander, 1969
I.P.C.	Slab toxic	Matsuguki și Ishizawa, 1969
	Inhibitor	Isaeva și Novogrudskaia, 1966
	Inhibitor	Fryer și Evans, 1968; Winely și San-Clemente, 1970; Chiriță și Ghinea, 1972
Acilanilide (Propanil, Sweep)	Inhibitor	Corke și Thomson, 1970; Chiriță și Ghinea, 1972; Noguki și Nakazawa, 1972; Găldean 1974
Amidele	Inhibitor	Fryer și Evans, 1968; Winely și San Clemente, 1970; Mikovski, 1970, 1972
Tiolcarbamați	Inhibitor	Fryer și Evans, 1968; Winely și San-Clemente, 1970; Chiriță și Ghinea, 1972; Naidu, 1972
Bipiridili	Fără efect	Tu și Bollen, 1968; Geoghegan și Knight, 1967
Picloram	Fără efect	Goring, și colab., 1967; Debona și Audus, 1970; van Schreven și colab. 1970
Derivați benzoici	Inhibitor	Hamadi și Tewfik, 1969
	Limită toxică 10 ppm (diclobenil)	Helweg, 1972
	Limită toxică 100 ppm (clortiamid)	Helweg, 1972
Ioxinil, bromoxinil	Inhibitor	van Schreven și colab., 1970; Sommer, 1972; Chiriță și Ghinea, 1972
Toluidinele	Puternic inhibitor	Hamdy și Tewfik, 1969; Rankov, 1973; Găldean, 1974
Trifluralin	Inhibitor	Chiriță și Ghinea, 1972
Fenoli substituiți	Stimulator	Jensen și Pederson, 1952
Aretit	Inhibitor	Rankov, 1973

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 54 (continuare)

Categoria de substanţe	Efectul fiziologic observat	Autorul observaţiei
D.N.B.P.	Limită toxică 10 ppm	Alexander, 1969
Derivaţi fenoxiacetici	Fără efect	Slepecky şi Beck, 1950; Goarin şi Didier de Saint Amand, 1957; Pearce, 1958; Jones, 1958; Nepomiluev şi Kuziakina, 1965; Sommer, 1970
2,4,5 T	Inhibitor	Naidu, 1972.
Derivaţi fenoxibutirici	Inhibitor 2 luni	Chandra Purna, 1964
Derivaţi fenoxipropionici	Inhibitor	van Schreven şi colab., 1970
Acizi alifatici halogenaţi	Inhibitor	Otten, 1957; von Keller, 1961; Worsham şi Gidens, 1957; de Gournay, 1971; van Schreven şi colab., 1970
	Cu scădere de recoltă	Gheller şi Hariton, 1960
Alcool alilic	Limită toxică 70 ppm	Alexander, 1969
Erbicide anorganice		
Dactal	Inhibitor	Tulabaev, 1972
Tiocianatul de sodiu	Puternic inhibitor	Smith şi colab., 1964
Arsenitul de sodiu	Puternic inhibitor	Quastel şi Scholefield, 1951
Cloratul de sodiu	Inhibitor	Latschav şi Zabuley, 1927; Asländer 1928; Harper, 1930; Stapp şi Bucke, 1937; Ruban, 1973
	Limită toxică 90 ppm	Alexander, 1969
	Na este inhibitor al nitrificării, calitate ce o comunică tuturor sărurilor sale	Karki, Kaiser, Pochon, 1972; Lees şi Quastel, 1945
Clorat de potasiu	Inhibă oxidarea nitriţilor	Lees şi Quastel, 1945; Karki şi colab., 1973
Cianamida de calciu	Inhibitor	Schmalfass, 1934
	Limită toxică 200 ppm	Alexander, 1969
Insecticidele organoclorinate	Uşor stimulator cu sporire a cantităţii de nitraţi în sol şi plantă	Pochon şi Lajudie, 1948; Bogdarina, 1961; Jaiswal, 1967
D.D.T.	Doza toxică pemtru *Nitrosomonas* 5 ppm *Nitrobacter* 100 ppm	Gaur şi Pareck, 1971
Insecticide dienice	Inhibitoare	Naumann, 1971; Gawaad şi colab., 1972
	Inhibitor cu scăderi de recoltă	Srivastava, 1969
Heptaclor	Limită toxică 50 ppm	Alexander, 1969
Insecticide organofosforice	Inhibare urmată de stimulări	Newman, 1970; Gawaad, 1972
	Stimulare datorită P., provenit din oxidarea insecticidului	Audus, 1970
Insecticide carbamice	Fără efect	Shing-Chsiang-Lin şi colab., 1972
Maneb	Inhibarea oxidării NH_3	Dubey şi Rodriguez, 1970
Verdasan	Inhibitor la doze mai mari de 10 ppm	Wainwright şi Pugh, 1973

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 54 (continuare)

Categoria de substanțe	Efectul fiziologic observat	Autorul observației
Captan	Inhibitor la doze mai mari de 250 ppm	Wainwright și Pugh, 1973.
Zineb	Inhibare 17 zile	Audus, 1970
Benomyl	Doza toxică mai mare de 25 ppm	Hoper, Beck și Wallnöfer, 1971.
Thiram	Inhibare 60 zile	Audus, 1970
	Inhibare la doze de peste 10 ppm	Wainwright și Pugh, 1973.
Nabam	Inhibare 60 zile	Audus, 1970
	Limită toxică 100 ppm	Alexander, 1969
Mylon	Inhibare 60 zile	Audus, 1970
	Limită toxică 150 ppm	Alexander, 1969
Ferbam	Inhibare 60 zile	Audus, 1970
	Limită toxică 187 ppm	Alexander, 1969
Fungicide pe bază de cupru	Stimulator	Bertrand, 1971
$CuSO_4$	Limită toxică 50 ppm	Alexander, 1969
Metilbromat	Suprimă complet dar temporar nitrificarea	Audus, 1970
Metilbronat și cloropicrină	Limită toxică 430 ppm	Alexander, 1969
D.D.	Limită toxică 23 kg/ha	Alexander, 1969

indirect de către erbicide în activitatea microbiană a solului sînt mai importante decît cele indirecte. Din puținele lucrări afectate acestui subiect (cu toată evidenta sa importanță), se desprinde concluzia generală că efectele nefavorabile ale unor erbicide asupra microflorei sînt amplificate de nelucrarea solului (Nepomiluev și colab. 1967; Teutenberg, 1968; Crafts și Webb, 1970; Walter, 1971; Berthold, 1970).

Ishizawa și Matsuguki (1966) arată că unele erbicide modifică intensitatea mobilizării azotului, sulfului și fierului și modificările înregistrate sînt rezultatul interacțiunii a 3 factori -tipul de sol, doza de substanță activă și modul de lucrare a solului. Datele obținute de Ghinea (1966) arată că în solurile ce urmează a nu mai fi lucrate ulterior grija pentru a realiza un pat germinativ optim prin lucrări ce preced semănatul trebuie sporită. Astfel s-a observat în toți anii că reducerea discuitului dinainte de semănat este urmată de scăderea numărului de bacterii din sol.

Efectul lucrărilor de întreținere asupra populației bacteriene a solului se resimte mai puternic în prima parte a perioadei de vegetație (prin numărul de bacterii saprofite și repartiția lor taxonomică).

Gradul de lucrare a influențat în largă măsură numărul microorganismelor celulolitice aerobe din sol. Tratarea cu atrazin a fost urmată de inhibarea bacteriilor celulolitice mai active (din genul *Cytophaga*). Inhibarea a fost cu atît mai puternică cu cît solul a fost mai puțin lucrat.

Printr-o distrugere mai bună a buruienilor, solul tratat cu erbicide nu mai este afînat de rădăcinile acestora. Rămînînd descoperit, el este

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 55

Influenţa substanţelor fitofarmaceutice asupra unor procese microbiene din sol

Procesul microbian studiat	Produsul	Efectul observat	Autorul observaţiei
Denitrificare	Triazine	Inhibă numai la doze mari sau repetate.	Guillemat şi colab., 1960
	Ureice	Inhibitor	Kurindina, 1965
	2,4 D	Fără efect	Tulabaev, 1972
	Endothal	Fără efect	Nepomiluev şi Kuziakina 1965; Novogrudskaia şi colab., 1965
	T.C.A.	Inhibitor	Lobanov şi Podubnaia, 1967
	Clorat de sodiu	Inhibitor	Karki şi colab., 1970
	Clorat de potasiu	Fără efect	Karki şi colab., 1973
	Insecticide	Fără efect	Audus, 1970
Hidroliza ureei	Fungicide acizi alifatici halogenaţi, 2, 4 D	Inhibitor Fără efect	Leideman şi colab., 1971
	Triazine	Inhibitor	Pelţer, 1972
Mineralizarea humusului	Tiolcarbamaţi,	Inhibitor	Naidu, 1972
	Triazine	Fără efect	Bliev şi Kozlova, 1972
	Fenoxiacetice	Stimulator cu efect favorabil pentru nutriţia plantelor	Abneva şi Bagaev, 1973
		Fără efect	Bliev şi Kozlova, 1972
	T.C.A.	Fără efect	Bliev şi Kozlova, 1972
	Cupru	Doza toxică : 100 — 1000 ppm	Quraishi şi Cornfield, 1973
	Insecticide organo-clorinate	Stimulator	Bogdarina, 1961
	Cloropiridină	Stimulator cu sporirea recoltei	Singh şi colab., 1973
		Stimulator	Winfred şi Cox, 1958
Producerea gibberelinelor	Triazine, Ureice, Carbamaţi Tiolcarbamaţi	Inhibitor	Sobieczanski, 1970
Producerea acidului indoil-acetic	Insecticide organofosforice	Inhibitor	Ruasathaman şi colab., 1973
Solubilizarea fosforului	Linuron	Inhibitor	Sivasithamparam, 1970
	Dursban	Inhibitor	Sivasithamparam, 1970
	Fluometuron	Inhibitor	Tulabaev, 1972
Oxidarea sulfului	Paraquat	Inhibitor	Tu şi Bolen, 1968
Oxidarea tiosulfatului	M.C.P.A.	Inhibitor	Audus, 1964
	Sulfamat de amoniu	Inhibitor	Audus, 1964
	Hidrazida maleică	Inhibitor	Audus, 1964
	H.C.H.	Inhibitor	Gray, 1965
Reducerea sulfaţilor	Linuron	Stimulator	Sivasithamparam, 1970
	Dursban	Stimulator	Sivasithamparam, 1970
Oxidarea fierului	Linuron	Stimulator	Sivasithamparam, 1970
	Dursban	Stimulator	Sivasithamparam, 1970

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 5

Efectul unor substanțe fitofarmaceutice asupra activității enzimatice a solului

Categoria de substanțe fitofarmaceutice	Enzima studiată	Efectul observat	Autorul observației
1. Triazine	Dehidrogenaza	Fără efect	Ghinea și Ștefanic, 1972
	Catalaza	Fără efect	Ghinea, 1964; 1966
	Protează	Fără efect	Ghinea, 1964; 1966
	Zaharază	Stimulator	Ghinea, 1964; 1966; Zubeț, 1968; Krezel și Musial, 1969
	Celulază	Inhibitor	Szegy, 1970.
	Fosfatază	Inhibitor	Zubeț 1968; Ciunderova și Zubeț, 1971; Goian, 1972; Vlăduțu și Soreanu, 1974
	Urează	Stimulator	Walter, 1971
		Inhibitor	Vlăduțu și Soreanu, 1974
Hidroxiatrazin	Dehidrogenază	Stimulator	Ghinea și Ștefanic, 1972
2. Aminotriazol	Dehidrogenază	Fără efect	Ghinea și Ștefanic, 1972
	Protează	Stimulator	Berthold, 1970
Saminol (aminotriazol + simazin)	Zaharază	Stimulator	Ghinea, 1970
Aminotriazol + dalapon	Dehidrogenază	Fără efect	Ghinea și Ștefanic, 1972
3. Substituenții fenilureei	Dehidrogenaza	Variabil	Ghinea și Ștefanic, 1972 Krezell și Musial, 1968.
	Zaharază	Inhibitor	von Keller, 1961.
		Stimulator	Krezel și Musial, 1969; Ciunderova și Zubeț, 1971
	β-glucozidaza	Inhibitor	von Keller, 1961 Ciunderova și Zubeț, 1971
	Oxidaza acidului glutamic (la *Pseudomonas*)	Inhibitor	Rashid și Mayaudon, 1974
4. Carbamați	Protează	Inhibitor	von Keller, 1961
	Urează	Stimulator	Berthold, 1970
	Oxidaza acidului glutamic (la *Pseudomonas*)	Inhibitor	Rashid și Mayaudon, 1974
	Asparaginază	Variabil	Krezel și Musial, 1969
Alipur	Fosfatază	Inhibitor	Goian, 1969
5. Tiocarbamați	Dehidrogenaza	Fără efect	Ghinea și Ștefanic, 1972
	Urează	Fără efect	Zubeț, 1968
	Fosfatază	Fără efect	Zubeț, 1968
	Protează	Inhibitor	Zubeț, 1968
	Zaharază	Inhibitor	Zubeț, 1968
6. Acilanilide	Dehidrogenază	Fără efect	Ghinea și Ștefanic, 1972
7. Bipiridili	Dehidrogenază	Stimulator	Ghinea și Ștefanic, 1972
	Urează	Fără efect	Giardina și colab., 1970
	Protează	Inhibitor	Giardina și colab., 1970
	Celulază	Inhibitor	Szegy, 1970
	Fosfatază	Fără efect	Goian, 1969
8. Dalapon	Zaharază	Inhibitor	Berthold, 1970
	β-glucozidază	Inhibitor	Berthold, 1970
	Urează	Stimulator	Walter, 1971
9. Toluidine	Dehidrogenază	Fără efect	Ghinea și Ștefanic, 1972
	Catalază	Fără efect	Gruzdev și colab., 1973

Tabelul 56 (continuare)

Categoria de substanțe fitofarmaceutice	Enzima studiată	Efectul observat	Autorul observației
10. Derivați benzoici	Dehidrogenază	Puternic inhibitor	Walter, 1970; Ghinea și Ștefanic, 1972
	Zaharază	Inhibitor	Walter, 1970
	Urează	Stimulator	Walter, 1970
11. Fenoli substituiți	Proteaza,	Inhibitor	Kisnè, 1965
	Fosfatază	Inhibitor	Ciunderova și Zubeț, 1971
	Zaharaza	Inhibitor	Ciunderova și Zubeț, 1971
12. 2,4, D	Dehidrogenază	Fără efect	Lenhard, 1956; Ghinea și Ștefanic, 1972
	Zaharază	Fără efect	Kiss, 1961
	Celulază	Inhibitor	Szegy, 1970
	Fosfatază	Inhibitor	Zubeț, 1968; Ciunderova, și Zubeț, 1971
13. M.C.P.A.	Dehidrogenază	Fără efect	Ghinea și Ștefanic, 1972
14. 2,4 D.B.	Protează	Stimulator	Ciunderova și Zubeeț, 1972
15. M.C.P.P.	Dehidrogenază	Fără efect	Ghinea și Ștefanic, 1972
16. Clorat de sodiu	Zaharază	Inhibitor	
	β-glucozidază	Inhibitor	
17. Clorat de potasiu	Dehidrogenază	Inhibitor 150 zile	Karki și colab., 1973
18. H.C.H.	Catalaza	Fără efect	Eliade și Ghinea, date nepublicate
	Protează	Fără efect	Eliade și Ghinea, date nepublicate
	Urează	Inhibitor	Gray, 1965
Duplitox	Fosfatază	Fără efect	Goian, 1969
19. Aldrin	Catalază	Fără efect	Eliade și Ghinea date nepub.
	Protează	Fără efect	Eliade și Ghinea ,, ,,
	Fosfatază	Fără efect	Goian, 1969
20. Heptaclor	Urează	Inhibitor	
21. Metasistox	Fosfatază	Stimulator	Goian, 1969
22. Benomyl	Dehidrogenază	Fără efect	Hoper și colab., 1971
	Catalază	Fără efect	Hoper și colab., 1971
	Amilază	Fără efect	Hoper și colab., 1971
23. Dietilditiocarbamați	Oxidază	Inhibitor	Werlei și Hartung, 1956
24. Ferbam	Fosfatază	Fără efect	Goian, 1969
25. Zineb	Fosfatază	Stimulativ	Goian, 1969
26. Tiradin	Fosfatază	Inhibitor	Goian, 1969
27. T.C.M.B.	Dehidrogenaza acidului glutamic	Inhibitor	G. Mabey, 1960
	Zaharază	Inhibitor	Voets și Vandamme, 1970
	Urează	Inhibitor	Voets și Vandamme, 1970
28. Dexon	Dehidrogenază	Inhibitor	Karanth și Vasantharyan, 1973

supus efectului de tasare al ploii (D o r s t, 1970). Se reduce de asemenea cantitatea de material energetic din sol, ceea ce influențează negativ structura sa în unele cazuri (B e r t h o l d, 1970). Aplicarea preemergentă an de an a erbicidelor a distrus structura solului în stratul 0—15 cm (W a l t e r, 1970). Toate aceste aspecte nefavorabile trebuie să stea în atenția agricultorului modern, care le poate remedia prin încorporarea periodică

Scanned with OKEN Scanner

de material organic. Încorporarea nu trebuie făcută însă în anii în care se intenţionează combaterea buruienilor cu triazine, derivaţi ureici sau acetanilide pentru a nu spori adsorbţia lor în sol, ci după utilizarea acestor substanţe, pentru a favoriza refacerea potenţialului fizic, chimic şi biologic al solului (Ghinea, 1966).

Pe solurile pe care se intenţionează a se utiliza erbicidele, arderea miriştei este categoric contraindicată, deoarece prin arderea paielor se formează cărbune adsorbant, care va reduce drastic efectul erbicidelor asupra buruienilor.

VII. SUCCESIUNEA CULTURILOR ŞI MICROORGANISMELOR DIN SOL

Spre sfîrşitul secolului al XIX-lea începuse să-şi facă loc ideea că plantele, prin rădăcinile lor, influenţează favorabil microflora din sol. Hiltner, în 1904, a formulat mai clar această idee, considerînd că secreţiile rădăcinilor determină atragerea şi înmulţirea microorganismelor în zona din jurul sistemului radicular, zonă pe care el a denumit-o rizosferă. Hiltner a constatat că secreţiile plantelor leguminoase ar favoriza în zona rădăcinii gruparea altor microorganisme decît secreţiile muştarului sau ovăzului. Mai mult, el a presupus că între plante şi bacterii ar avea loc o acţiune reciprocă de schimburi de elemente de nutriţie, astfel încît o schimbare a necesităţilor alimentare ale plantelor ar produce o schimbare în compoziţia populaţiei microbiene din rizosferă. Stoklasa (1926), în urma experienţelor întreprinse mai mulţi ani, demonstrează că rădăcinile au o influenţă specifică asupra microbilor din sol.

Dacă pînă în 1930, cercetările asupra rizosferei au fost limitate la nivelul unor constatări de suprafaţă, cum ar fi: creşterea conţinutului de bioxid de carbon, creşterea solubilităţii unor săruri minerale greu solubile, după această dată, cercetările devin mai profunde, mai numeroase şi mult diversificate ca tematică.

Despre relaţiile dintre plante şi microorganisme s-a scris pe larg în cap. I, acum se vor face referiri în special la implicaţiile agronomice pe care le includ aceste relaţii.

1. PLANTELE CULTIVATE ŞI ECHILIBRUL MICROBIAN AL SOLULUI

La al III-lea Congres internaţional de microbiologie (1939), Starkey, pe baza unei serii lungi de cercetări în domeniul rizosferei, spunea: „Dintre toţi factorii care determină abundenţa şi natura populaţiei solului, planta însăşi ocupă un loc unic. Sursa principală de nutriţie pentru microorganisme provine din plante, iar natura şi abundenţa materiilor nutritive reglează dezvoltarea organismelor mai mult decît oricare alt factor".

Scanned with OKEN Scanner

Modificările cele mai importantă produse de plantele de cultură par a fi, pe de o parte, stimularea organismelor cu cerinţe nutritive simple, săruri minerale sau aminoacizi, iar pe de altă parte, inhibarea relativă a celor care depind de substanţe nutritive complexe, conţinute în extractul de sol.

Cercetările de după cel de-al doilea război mondial au confirmat şi au fundamentat prin experienţe laborioase cele arătate mai sus, evidenţiind şi alte consecinţe, precum şi alte cauze ale modificării echilibrului microbian al solului datorită cultivării plantelor.

Încă din momentul încolţirii unei seminţe, în solul ce o înconjoară se produce o înmulţire selectivă a microflorei de pe sămînţă, creîndu-se o zonă intens populată numită „spermosferă sau spermatosferă".

Această stimulare selectivă se datoreşte exsudatelor eliminate în timpul germinării şi a fost denumită „efect de sămînţă". După ce sistemul radicular începe să se dezvolte, rădăcinile sînt colonizate de alte microorganisme, în special bacterii provenite din sol. Bacteria *Xanthomonas fuscans*, specifică spermosferei este eliminată din biocenoză atît datorită acţiunii inhibitoare a secreţiilor radiculare, cît şi rolului înalt competitiv al bacteriilor cu morfologie simplă, gram-negative, nesporogene, din sol. Acestea, datorită rapidităţii cu care se înmulţesc şi tipului metabolic mai activ, reuşesc să colonizeze rădăcinile, determinînd caracteristica taxonomică a rizosferei.

În mod similar, ciupercile din sol înlocuiesc pe cele provenite de pe sămînţă.

După cum se vede din cele arătate mai sus şi mai pe larg în cap. I, plantele, prin secreţiile rădăcinilor lor, modifică puternic echilibrul microbiologic al solului, menţinînd pe toată perioada de vegetaţie o proporţie ridicată de bacterii nesporogene, gram-negative, cu morfologie simplă.

Încă de la începuturile cercetărilor din domeniul rizosferei plantelor, s-au făcut afirmaţii despre existenţa unei rizosfere specifice fiecărei specii de plante (H i l t n e r, 1904). Preocupările ulterioare, îndreptate spre compoziţia chimică a secreţiilor radicelare de la diferite specii de plante, au scos în evidenţă unele diferenţe în funcţie de specia de plantă de la care provin. Analizele microbiologice nu au fost însă suficient de concludente pentru a evidenţia organisme specifice pentru o specie sau alta de plantă, deşi sînt numeroase lucrările care afirmă existenţa unor specii microbiene în unele rizosfere, spre deosebire de altele.

Rezultă, aşadar, că pînă în prezent nu s-a demonstrat şi nu se poate verifica experimental că o rizosferă, de mazăre (spre exemplu), totdeauna şi în orice tip de sol sau în orice condiţii agrotehnice va avea o structură unică şi specifică a microbiocenozei. Apare mai plauzibilă ipoteza, că în rizosfera unei specii de plantă există unele raporturi caracteristice între speciile de microorganisme, aceste raporturi fiind cuprinse în limite destul de largi.

Cei mai mulţi cercetători au semnalat însă diferenţele evidente dintre rizosfera diferitelor plante în ceea ce priveşte mărimea populaţiei microbiene, precum şi intensitatea de manifestare a efectului de rizosferă

Scanned with OKEN Scanner

(Starkey, 1958; Manzon; Adati; Gräf; Krasilikov şi colab., citaţi de Daste, 1958; Zubenko, 1973).

Cercetări întreprinse la noi în ţară, în vase de vegetaţie cu podzol, au confirmat dependenţa numărului de bacterii din zona radicelară de specia plantei cultivate. Astfel, la mazăre au fost găsite 816 milioane de bacterii la 1 m² de suprafaţă de adsorbţie a rădăcinii, la porumb, 199 de milioane/m², iar la grîu numai 66 de milioane/m².

Mai sînt însă şi alte aspecte care trebuie luate în seamă cînd este vorba de modificarea echilibrului microbian al solului: extinderea în timp a efectului de rizosferă şi masa de sol pe care rădăcina o influenţează.

2. EFECTUL ROTAŢIEI CULTURILOR ASUPRA MICROPOPULAŢIEI SOLULUI

Încă din cele mai vechi timpuri s-a observat că o plantă cultivată pe aceeaşi suprafaţă de teren, după cîţiva ani începe să-şi micşoreze producţia. Această observaţie a dus la cultivarea succesivă, pe acelaşi teren a mai multor plante, astfel încît, o anumită specie să nu revină pe acelaşi teren decît după cîţiva ani. Cercetările au acumulat date experimentale pe baza cărora se explică scăderea producţiei în condiţii de monocultură şi avantajele unei rotaţii în care plantele se succed într-o anumită ordine, raţional stabilită. S-a constatat influenţa favorabilă a rotaţiei asupra calităţii producţiei de boabe privind conţinutul în proteină şi microelemente (Golik şi Cliaciko, 1972). Bineînţeles că problema cuprinde încă multe necunoscute, cele mai multe existînd în domeniul biologiei solului.

2.1. EFECTUL MONOCULTURII

După cum s-a arătat deja, plantele, în timpul vegetaţiei, determină modificări importante ale echilibrului biologic, ale raportului în care se află diferite grupe sau specii de microogrganisme între ele. Ce se întîmplă însă după ce plantele îşi încheie vegetaţia şi sînt recoltate? În primul rînd se constată dispariţia efectului de rizosferă, adică pe rădăcinile rămase în sol se instalează o altă asociaţie microbiană, foarte apropiată de cea a solului. Creşte comparativ cu situaţia din rizosferă, cantitatea de micelii şi spori de ciuperci şi actionomicete, precum şi cea de bacterii sporogene. Această nouă asociaţie microbiană poate fi asemănătoare cu cea a solurilor în care se încorporează resturi vegetale. Din acest moment, în sol se stabilesc acele relaţii între diferitele grupe şi specii de microorganisme, care de fapt definesc echilibrul microbiologic corespunzător condiţiilor concrete ale solului în permanentă refacere.

Scanned with OKEN Scanner

Există puține cercetări privitoare la efectul în timp al culturilor repetate asupra microbiocenozelor saprofite. Este vorba de observații privitoare la efectele favorabile ce apar în primii ani: îmbogățirea solului în bacterii din genul Rhizobium, ca urmare a cultivării leguminoaselor sau a ciupercilor micoizice în cazul a numeroase plante (Berezova și colab. 1955).

Krasilnikov (1968) mai menționează în plus acumularea unei microflore antagoniste față de microorganismele parazite, în urma cultivării lucernei.

Despre efectul negativ al monoculturii date foarte interesante au adus cercetările relativ mai noi, efectuate de Rivière și colab. (1970). Ei au pornit de la constatarea că în condițiile Franței, cultivarea porumbului în monocultură se soldează cu scăderi de recoltă și aceste scăderi sînt agravate de încorporarea în sol a cocenilor. Prin încorporarea resturilor vegetale de porumb solul se îmbogățește în acid oxalic (Rovira și colab., 1967) și acid paracumaric (Hennequin și Juste, 1967), ambii fitotoxici pentru porumb. Studiul unei monoculturi de porumb, veche de 12 ani, a permis lui Rivière și colab. să demonstreze că în aceste condiții 56 % din microflora solului este constituită din actinomicete care metabolizează cei doi acizi, producînd substanțe toxice atît pentru porumb, cît și pentru bacteriile ce alcătuiesc micoflora normală a solului (în special microorganisme din genurile *Bacillus* și *Arthrobacter*).

Nu numai planta de cultură, ci adeseori și buruienile specifice culturii, care se repetă, lasă în sol, în cursul vegetației sau după încorporarea lor în sol, substanțe toxice. Acest fapt a fost constatat de Horowitz și Friedman (1971) pentru buruienile *Sorghum halepense*, *Cynodon dactylon* și *Cyperus rotundus*.

Cercetări mai numeroase și mai aprofundate au fost efectuate în domeniul protecției plantelor, unde s-au cercetat cauzele care determină îmbolnăvirea plantelor și scăderea recoltelor în cîmp. S-a observat că sistemul de cultivare repetată a unei plante pe același teren generează o scădere a recoltelor de la an la an și că această scădere corelează cu numărul plantelor bolnave.

Cauzele intensificării acțiunii fitopatogene în condițiile monoculturii sînt parțial cunoscute. În ce măsură microflora saprofită a solului joacă un rol în starea fitosanitară și care măsuri agrotehnice stimulează rolul ei binefăcător, nu este încă pe deplin clarificat.

Cercetări întreprinse pe cernoziomul moderat levigat de la Fundulea au urmărit să stabilească modificările ce survin în peisajul microbiologic al solului și rizosferei grîului dintr-o monocultură de 8 ani și cele ale solului și rizosferei grîului din rotații de doi ani cu porumb și de atru ani cu porumb-porumb-mazăre, în absența măsurilor de fertilizare.

Rezultatele analizelor microbiologice executate la sol și la rizosfera grîului cultivat în monocultură și după porumb sau mazăre ca plante

Scanned with OKEN Scanner

premergătoare, cît şi ale analizelor enzimatice efectuate la solul din aceleaşi variante experimentale, sînt prezentate sinoptic în tabelul 57.

Coeficientul de rizosferă (R : S) arată că grîul cultivat după mazăre manifestă un efect de rizosferă mai puternic decît în cazul monoculturii sau în rotaţie după porumb. Faptul că grîul cultivat după mazăre s-a prezentat primăvara într-o stare vegetativă mai bună, comparativ cu celelalte premergătoare, explică influenţa favorabilă exercitată asupra microflorei rizosferice.

Activitatea enzimatică a solului cultivat cu grîu după premergătoarele amintite nu se diferenţiază semnificativ. Variaţiile înregistrate între variante sînt însoţite de variaţii mari între repetiţii.

Singurele variaţii semnificative sînt cele sezoniere, care nu aduc însă nici o clarificare în problema influenţei plantei premergătoare.

Tabelul 57

Influenţa plantei premergătoare asupra efectului de rizosferă a grîului şi asupra unor activităţi enzimatice din sol (după Ştefanic şi Eliade — date nepublicate

Analiza efectuată	Anul şi faza de vegetaţie	Planta premergătoare		
		Grîu (monocultură)	Mazăre	Porumb
Efectul de rizosferă la sfîrşitul înfrăţitului (R : S)	1967	19,8	38,1	10,9
	1968	17,8	32,6	24,0
Activitatea dehidrogenazică (mg. formazan/100 g sol uscat)	1967			
	Sfîrşitul înfrăţitului	24,5	15,8	21,3
	Înflorit	34,8	32,1	34,2
	Coacere	18,1	18,1	21,3
	1968			
	Sfîrşitul înfrăţitului	28,6	30,2	19,3
	Înflorit	9,7	10,3	10,3
	Coacere	14,4	11,9	12,1
Activitatea ureazică (mg NH_4/100 g sol uscat)	1967			
	Sfîrşitul înfrăţitului	38,2	36,3	35,2
	Înflorit	36,1	43,2	35,4
	Coacere	60,9	50,1	50,1
	1968			
	Sfîrşitul înfrăţitului	53,0	50,8	54,8
	Înflorit	76,6	102,3	99,9
	Coacere	115,6	100,8	99,9
Activitatea fosfatazică (mg fenol /100 g sol uscat)	1967			
	Sfîrşitul înfrăţitului	301	312	336
	Înflorit	427	484	386
	Coacere	450	458	428
	1968			
	Sfîrşitul înfrăţitului	459	545	519
	Înflorit	397	460	347
	Coacere	486	509	356

Scanned with OKEN Scanner

2.2. EFECTUL ALTERNANȚEI CULTURILOR

Pentru elucidarea modului în care planta premergătoare influențează cultura de grîu, s-au recoltat și analizat probe de sol, înaintea semănatului acestuia. Rezultatele obținute (tab. 58) arată că microorganismele sînt mai numeroase în parcelele care au fost cultivate cu mazăre și porumb comparativ cu monocultura de grîu. Acest lucru poate fi ușor explicat prin calitățile nutritive ale resturilor vegetale de mazăre și porumb în comparație cu cele de grîu. În parcela ce urmează după mazăre, activitatea dehidrogenazică este de asemenea foarte ridicată, concordînd cu densitatea microflorei, în timp ce la porumb nu se observă această relație, ceea ce evidențiază o altă dinamică a activității biochimice, determinată de recoltarea tîrzie a porumbului.

Activitatea ureazică și fosfatazică sînt mai reduse după mazăre (la data analizării probelor) probabil datorită timpului mai îndelungat scurs de la recoltarea acesteia, precum și a degradării rapide a resturilor acestei culturi. Ca urmare a mineralizării resturilor provenite de la cultura de mazăre, în sol se acumulează săruri solubile ce constituie cauza creșterii numărului și activității microflorei, și baza materială a dezvoltării mai bune a culturii de grîu după mazăre.

O altă experiență, amplasată pe un sol brun de pădure mediu podzolic-oligobazic, cultivat cu grîu de toamnă în rotație (cu mazăre și porumb) și în monocultură, a arătat (fig. 65) de asemenea că numărul cel mai mare de bacterii heterotrofe s-a obținut în solul cultivat cu grîu după mazăre (Z a h a n și colab., 1971). Diferențele cauzate de plantele premergătoare se micșorează la ieșirea din iarnă, trecînd pe primul plan influența secrețiilor radicelare ale grîului.

În toamnă se observă că, la data semănatului grîului, solul din monocultură și cel care fusese cultivat cu mazăre prezintă o activitate ureazică mai mică decît cea din solul cultivat cu porumb.

În cursul vegetației grîului situația se echilibrează, iar spre maturitatea sa, în parcelele unde au premers mazărea și porumbul se constată o activitate ureazică mai ridicată decît la grîul din monocultură. Activi-

Tabelul 58

Microflora totală și activitatea unor enzime în sol după plantele premergătoare, la data semănatului grîului (după Ș t e f a n i c ă și E l i a d e — date nepublicate)

Analiza	Planta premergătoare		
	Grîu (monocultură)	Mazăre	Porumb
Microflora totală (n × 10^6/g sol)	29,9	106,4	43,1
Activitatea dehidrogenazică (mg formazan/100 g sol uscat)	26,7	61,0	25,9
Activitatea ureazică (mg NH_4/100 g sol uscat)	32,9	24,3	33,6
Activitatea fosfatazică (mg fenol/100 g sol uscat)	361	304	422

Scanned with OKEN Scanner

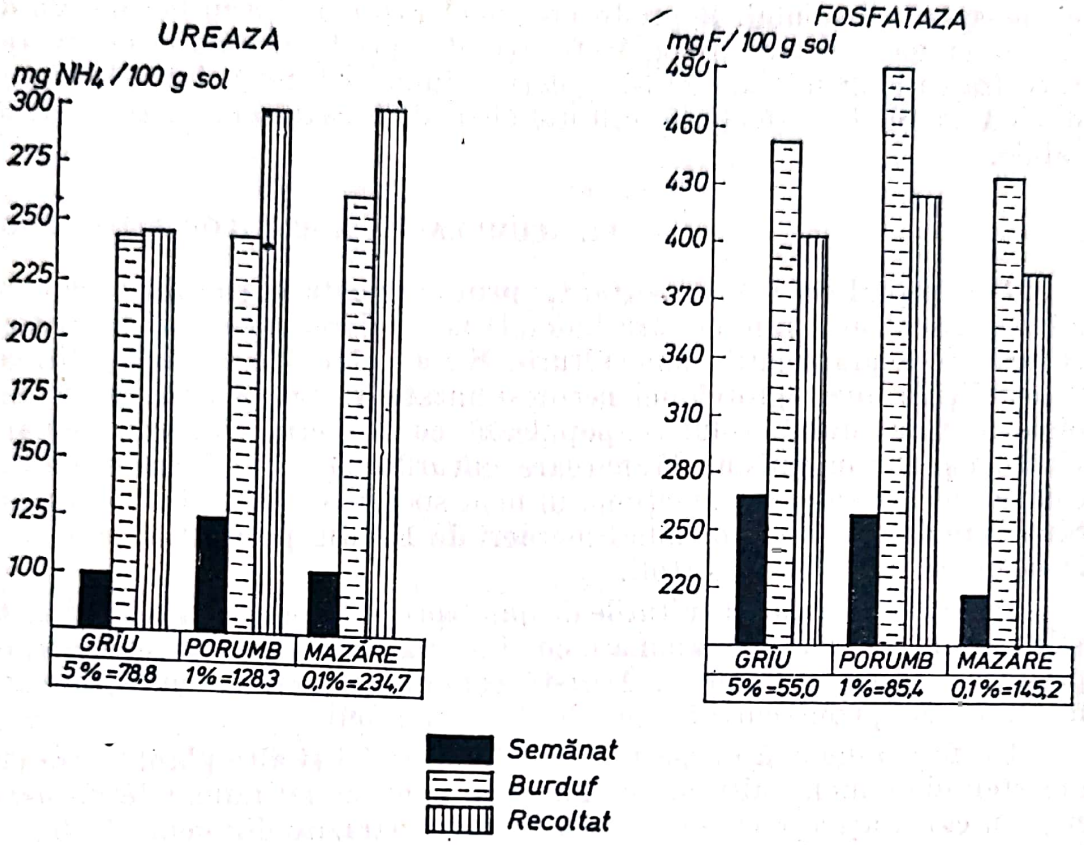


Fig. 65. Influenţa plantei premergătoare asupra activităţii ureazice şi fosfatazice a solului (după Zahan şi colab., 1971)

tatea fosfatazică, în toamnă, prezintă cele mai ridicate valori în solul din monocultură şi cel care a fost cultivat cu porumb.

În cursul vegetaţiei grîului situaţiile se schimbă, diferenţele dintre activitatea fosfatazică la grîu şi mazăre dispar, porumbul ca premergătoare favorizînd activitatea cea mai ridicată.

Datele prezentate arată că procesele avansate de descompunere a resturilor vegetale de mazăre, dată fiind recoltarea sa timpurie şi compoziţia bogată în proteină a vrejilor şi rădăcinilor, permit plantelor tinere de grîu să crească mai repede în toamnă, să intre mai viguroase în iarnă. La aceasta se pot adăuga şi alte condiţii, cum ar fi : calitatea arăturii în miriştea de mazăre, timpul necesar pentru nitrificare şi acumularea apei din precipitaţiile de vară-toamnă.

În funcţie de aceste condiţii, diferenţele dintre plantele premergătoare pot fi mai accentuate, sau mai reduse, uneori lipsind cu totul sau fiind total inversate.

3. SISTEMUL DE CULTURĂ ŞI STAREA FITOSANITARĂ

În condiţiile cultivării timp îndelungat a unei singure culturi, solul va suferi an de an acelaşi ciclu biologic, caracterizat prin alternanţa a două tipuri predominante de microbiocenoze : micropopulaţia rizosferei

şi cea specifică solului. Reproducerea aceloraşi condiţii în fiecare an duce mai devreme sau mai trîziu, în funcţie de specificul plantei cultivate, la favorizarea unor microorganisme, care se înmulţesc peste limitele normale, ducînd în final la efecte agrofitotehnice şi fitosanitare vizibil nefavorabile.

3.1. ACUMULAREA AGENŢILOR FITOPATOGENI

Fenomenul cel mai important, prin frecvenţa şi pagubele pe care le aduce agriculturii, rămîne fără îndoială acumularea agenţilor fitopatogeni ca urmare a practicării monoculturii. K r a s i l n i k o v (1968) afirmă că în condiţiile unei agrotehnici necorespunzătoare sau a unui regim agrobiologic nefavorabil, solul se populează cu bacterii, ciuperci, nematozi, virusuri şi alte organisme dăunătoare culturilor agricole. Printre practicile contraindicate se poate menţiona în mod special sistemul de monocultură. Sînt apreciate la nivel mondial pierderi de 1/5 din producţia de grîu, 1/6 la fasole şi tot atîta la cartofi.

În Asia Centrală, în culturile de bumbac din Uzbekistan şi Tadjikistan, solurile sînt tot mai contaminate cu ciuperca *Fusarium vasinfectum*, care produce ofilirea la bumbac. Această contaminare creşte cu fiecare însămînţare nouă, consecutivă a bumbacului (tab. 59).

Un fapt asemănător s-a petrecut la in, trifoi şi alte plante care cresc în sistemul de monocultură. Solul nu este contaminat numai de *Fusarium*, ci şi cu cantităţi apreciabile de alte ciuperci parazite din genurile *Helminthosporium*, *Rhizoctonia*, *Verticillium* etc. (K r a s i l n i k o v 1968).

Cercetări întreprinse la ICCPT-Fundulea, în intervalul anilor 1969 — —1971 au scos în evidenţă dependenţa dintre asolament (prin ponderea florii-soarelui şi a sfeclei de zahăr în structura culturilor), frecvenţa atacului de mană, cercosporioză şi producţiile agricole obţinute. În tabelul 60 se prezintă rezultatele obţinute la floarea-soarelui (S i n, 1972). Includerea florii -soarelui în asolament arată că odată cu creşterea ponderii sale în structura culturilor de la 14 % (asolament de 7 ani) la 100 % (monocultură) are loc o sporire a frecvenţei atacului de mană de la 0,8 % la

Tabelul 59

Gradul de infectare a solului cu ciuperca Fusarium vasinfectum în monocultura de bumbac (după K r a s i l n i k o v, 1968)

Cultura	Sol martor (asolament)		Acelaşi sol (monocultură)	
	Ciuperci total	*F. vasinfectum*	Ciuperci total	*F. vasinfectum*
I şi a II-a	20—40 milioane	0—0,01 milioane	20—40 milioane	0—0,02 milioane
A III-a	15—30 ,,	0—0,05 ,,	20—40 ,,	1,5—5,0 ,,
A V-a	40—60 ,,	0,1—0,2 ,,	60—80 ,,	20—40 ,,
A VI-a	30—40 ,,	0—0 ,,	100—200 ,,	30—40 ,,
A VII-a	50—60 ,,	0,01—0,05 ,,	100—200 ,,	50—60 ,,
A VIII-a	50—70 ,,	0—0,2 ,,	180—200 ,,	50—80 ,,

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 69

Dependenţa dintre ponderea florii-soarelui în structura culturilor, frecvenţa atacului de mană (simptome vizibile) şi producţia obţinută (media 1969–1971) – după S i n, 1972

Rotaţia	Ponderea în structura culturilor (%)	Frecvenţa atacului de mană (%)	Producţia (%)
7	14	0,8	100
6	17	1,3	99,2
5	20	4,4	93,7
4	25	8,3	89,4
3	33	10,8	85,4
2	50	13,0	77,2
1	100	21,6	63,4

21%, avînd ca efect scăderea producţiei cu 9,3 q/ha. Prin urmare, pentru asigurarea unor producţii mari şi stabile de floarea-soarelui este necesar ca această cultură să fie inclusă în asolamente de 6–7 ani, prin care se asigură un interval de timp suficient pentru epuizarea rezervei de agenţi patogeni din sol. Revenirea pe acelaşi loc a florii-soarelui la un interval mic de ani determină o frecvenţă mare a atacului de mană, care scoate din circuitul productiv un număr însemnat de plante.

La sfecla de zahăr, boala care a înregistrat cea mai mare frecvenţă (între anii 1969–1971) a fost cercosporioza produsă de *Cercospora beticola*. Cel mai puternic atac s-a produs în monocultura de sfeclă de zahăr (60–85,2 % plante atacate), iar cel mai slab atac s-a înregistrat în asolamente de 4 şi 5 ani, după premergătoarele grîu şi porumb (6,8–14,1 % plante atacate).

În condiţiile anului 1968, datorită secetei, s-a produs un atac intens de gomoză bacilară (*Bacillus betae*). În monocultura de sfeclă de zahăr, 10,3% plante au fost atacate, după floarea-soarelui, 8,1%, iar cînd sfecla a urmat după grîu, porumb sau mazăre, 3,2 – 3,0 %.

3.2. OBOSEALA SOLULUI

Adeseori cînd se constată scăderea recoltelor pe o anumită suprafaţă de teren şi nu se poate da o explicaţie concretă, iar unele măsuri de fertilizare nu dau satisfacţie, se acuză o anumită „oboseală a solului".

Cauzele care duc la această stare nu sînt încă binecunoscute, deşi constituie o preocupare de mai bine de 60 de ani a oamenilor de ştiinţă.

R u s s e l l şi H u t c h i n s o n (1909; 1913) au presupus că acest fenomen este produs de protozoare, care înmulţindu-se exagerat, consumă bacteriile din sol, stricînd echilibrul biologic al acestuia. Numeroşi cercetători au arătat că în urma sterilizării solului protozoarele apar în număr foarte mare, fără a provoca oboseala solului.

Scanned with OKEN Scanner

Alţi cercetători au considerat că lipsa microelementelor poate constitui o cauză a manifestării oboselii solului.

Fedorov (1948) a reuşit să facă să dispară acest fenomen prin încălzirea solului sau prin tratarea cu substanţe antiseptice.

Înoculînd apoi solul sterilizat cu o suspensie din acelaşi sol nesterilizat, a făcut să reapară, după un timp scurt, fenomenul de oboseală. Acest autor a reuşit să determine apariţia oboselii solului inoculînd într-un sol parţial sterilizat cîteva specii de bacterii şi ciuperci : *Pseudomonas fluorescens*, *P. aeruginosa*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Fusarium* sp.

Müller (1968), sintetizînd în cîteva cuvinte cele cunoscute în acest domeniu, arată că „indicii de oboseală a solului" sînt foarte greu de separat de fenomenele care rezultă din dezechilibrul biologic al solului produs de către organismele saprofite şi parazite.

Într-un sol fertil predomină o micropopulaţie stabilă şi bine echilibrată. Modificarea acestui echilibru într-un sens nedorit, produsă de măsuri culturale neadecvate, poate duce la mărirea numărului organismelor fitopatogene. În acest caz se încearcă diferite metode de combatere, între care tratamente termice sau cu antiseptice, care au drept scop sterilizarea parţială şi temporară a solului.

3.3. MĂSURI DE ÎNSĂNĂTOŞIRE A SOLULUI CU AJUTORUL MICROFLOREI ANTAGONISTE

Inhibarea ciupercilor fitopatogene din sol prin microorganisme antagoniste a fost observată de numeroşi cercetători. Krasilinikov (1958), Stober (1963), Paker (1963); Alexander (1964) şi Mitchel (1963) au arătat că ciuperci ca : *Helmintosporium*, *Fusarium*, *Phytophtora*, *Verticillium*, *Rhizoctonia*, *Phymatotrichum* şi *Alternaria*, pot fi inhibate şi eliminate din sol de către bacterii şi alte microorganisme.

Krasilinikov (1968), în baza analizelor făcute în solurile din Asia Centrală, constată că solul cultivat cu bumbac în monocultură se îmbogăţeşte în ciuperci (*Verticillium dahliae şi Fusarium vasinfectum*), iar lucerna stimulează creşterea bacteriilor micolitice şi a altor antagonişti care împiedică creşterea acestor ciuperci (tab. 61).

Din datele prezentate se observă că sub cultura bumbacului, după 7 ani de cultivare, numărul antagoniştilor era extrem de scăzut, ca apoi, sub cultura lucernei, să crească de la an la an, atingînd în final între 10 şi 150 milioane/g sol.

O asemenea observaţie a determinat pe cultivatorii de bumbac din Asia Centrală să introducă lucerna în rotaţie cu bumbacul, cînd producţia acestuia începe să scadă.

În anumite zone din S.U.A., culturile de bumbac sînt alternate cu culturi de alune de pămînt care favorizează înmulţirea antagoniştilor împotriva ciupercilor ce produc veştejirea bumbacului.

Un mijloc eficace de combatere a unor fitopatogeni este acela de a introduce în sol anumite substanţe care stimulează înmulţirea antagoniştilor.

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 61

Distribuţia bacteriilor micolitice (n × 10^6/g sol uscat) în sol sub bumbac şi lucernă în cadrul rotaţiei culturilor (după Krasilnikov, 1968)

Regiune	Antagonişti ai ciupercii							
	Verticillium dahliae				*Fusarium vasinfectum*			
	bumbac	lucernă			bumbac	lucernă		
	anul							
	7	1	2	3	7	1	2	3
Uzbekistan Staţiunea experimentală Cîmp lîngă Taşkent	0—0,01	0,1—0,5	1 —15	10—50	0,01	0—0,2	15—30	20— 50
Tadjikistan Staţiunea experimentală Cîmp lîngă canalul Kurgan	0,01	0,5—0,8	1,5—40	15—40	0,05	0,5	5—40	10—100
	0,005	0,3—1,0	10—40	30—100	0,0	1,5	10—60	50—100
	0,002	0,3—0,6	5—25	20—60	0,01	0,5	60	80—150

Voronkevici (1958)) a obţinut o reducere importantă a atacului de *Erwinia carotovora* şi o creştere simultană a actinomicetelor antagoniste, prin tratarea solului cu amestec de calcar, turbă şi de gunoi de grajd.

Un fapt similar a fost observat de asemenea de Mitchell (1963) şi Alexander (1964). Aceştia au introdus în sol chitină şi micelii de ciuperci (care conţin chitină) obţinînd creşterea numărului unor bacterii care produc chitinaza şi laminarinază, cu consecinţe distructive asupra pereţilor celulari ai ciupercilor fitopatogene *Fusarium* (acestea conţin chitină şi laminarină). Simpla introducere a zahărului în sol (Sequeira, 1962) sau a materiei organice (Baker, 1963 şi Stover, 1963) a determinat creşterea numărului de bacterii şi actionomicete antagoniste faţă de ciupercile fitopatogene.

Krasilnikov (1968) a obţinut rezultate bune folosind culturi de antagonişti în amestec cu turbă şi sol. După o incubare de 10—15 zile un asemenea compost s-a introdus în sol, determinînd scăderea infecţiilor fungice cu 30 %.

În sfîrşit, este important de amintit că una din cauzele oboselii solului ce se manifestă în culturile de leguminoase o constituie şi acumularea în sol a bacteriofagilor anti-*Rhizobium*. Pentru realizarea unor culturi reuşite de leguminoase este nevoie ca tratarea seminţelor să fie făcută cu bacterii de nodozităţi fagorezistente.

Bălan şi colab. (1970) au întreprins în acest scop izolări de bacteriofagi anti-*Rhizobium* (din diferite soluri româneşti) faţă de care au testat rezistenţa tulpinilor de colecţie. Culturile selecţionate de *Rhizobium* s-au dovedit deosebit de productive, după cum se va putea observa în capitolul referitor la folosirea biopreparatelor în agricultură.

Scanned with OKEN Scanner

VIII. BIOPREPARATELE ŞI UTILIZAREA LOR ÎN AGRICULTURĂ

Pe măsură ce cunoştinţele despre rolul microorganismelor din sol ca realizatori ai principalelor procese implicate în fertilitate s-au acumulat, s-a pus problema valorificării practice a acestor cunoştinţe. Principala cale pe care s-a căutat a se rezolva această problemă a fost găsirea unor măsuri agrotehnice care să stimuleze activitatea microbiană a solului. Ele au fost discutate în capitolele anterioare.

Paralel, s-a dezvoltat şi a doua cale : aceea de a înmulţi unele bacterii utile, în afara solului şi a le introduce apoi în pămînt la densitatea, locul şi momentul voit.

1. BIOPREPARATELE CU BACTERII SIMBIOTICE FIXATOARE DE AZOT

Scurtă vreme după ce Hellriegel în 1886—1888 aduce primele dovezi despre folosirea azotului gazos de către bacteriile din nodozităţile plantelor leguminoase, Salfeld (1888) propune la Staţiunea experimentală Bremen (Germania), inocularea culturilor acestor plante prin transfer de sol infectat cu astfel de germeni de la culturi bune de leguminoase. Metoda se extinde şi sînt citate sporuri de producţie la mazăre, trifoi şi lupin. În 1897 Duggar îmbunătăţeşte metoda, prin amestecarea solului de infecţie cu sămînţa umectată. Un moment de răscruce în problema inoculării leguminoaselor îl constituie lucrările lui Nobbe şi Hiltner, din 1896, care se bazează pe folosirea culturilor pure de bacterii de nodozităţi. Încă în 1895 ei obţin brevetarea procedeului în Anglia şi S.U.A. Acest an poate fi socotit ca anul de început al comercializării culturilor pure de bacterii de nodozităţi. Trebuie să amintim totuşi că printre primii care au folosit culturile pure de bacterii de nodozităţi la tratarea seminţelor leguminoase au fost : Beijerinck (1888), Nobbe, (1890) şi Prazmovski (1891). Preparatele cu culturi pure produse după procedeul lui Nobbe şi Hiltner s-au comercializat sub denumirea de „Nitragin" şi erau realizate în 17 variante, după concepţia autorilor, că fiecărei specii de plantă leguminoasă îi corespunde o anumită specie de bacterii de nodozităţi.

Practica bacterizării seminţelor de leguminoase cu preparate specifice s-a răspîndit foarte repede, deoarece prezenta următoarele avantaje :

Infecţia se petrece rapid ; bacteriile vin în contact direct cu plantulele şi pătrund imediat în perii radicelari.

Preţul acestor culturi de laborator este mult mai mic decît al solului de transfer.

Dispare pericolul de a se răspîndi ciuperci dăunătoare.

Este nevoie de mai puţină muncă.

Ample cercetări realizate în vederea cunoaşterii fiziologiei bacteriilor din genul *Rhizobium* (bacteriile de nodozităţi), precum şi a condiţiilor de simbioză între bacterii şi plantă, au dus la cunoaşterea mai bună a fenomenului de simbioză precum şi a tehnologiei de producere şi folosire

Scanned with OKEN Scanner

a preparatelor acestora. Au fost astfel stabilite norme privind raportul dintre numărul de bacterii de nodozităţii din inocul, numărul şi mărimea nodozităţior formate, precum şi raportul dintre gradul de formare a nodozităţilor şi gradul de beneficiu al plantei. O cultură de *Rhizobium* este apreciată pe baza a două caractere deosebit de importante:

Capacitatea de a forma nodozităţi pe rădăcinile plantelor leguminoase.

Eficacitatea în fixarea azotului molecular în cadrul simbiozei cu planta.

Capacitata bacteriilor din genul *Rhizobium* de a forma nodozităţi trebuie legată de caracterul de specificitate al acestora faţă de planta gazdă. Este binecunoscut faptul că există grupe de plante care au o specie comună de *Rhizobium* ce formează nodozităţi pe rădăcinile lor. Astfel, prin cercetări amănunţite, au fost determinate următoarele grupe de plante mai importante cu inoculare încrucişată :

Grupul lucernei = *Rhizobium meliloti* : lucerna (*Medicago sativa*), trifoi mărunt (*Medicago lupulina*), lucerna galbenă (*Medicago falcata*), sulfina albă (*Melilotus alba*), sulfina (*Melilotus officinalis*).

Grupul trifoiului = *Rhizobium trifolii* : trifoiul roşu (*Trifolium pratense*), trifoiul alb (*Trifolium repens*), trifoiul hibrid (*Trifolium hybridum*).

Grupul mazării = *Rhizobium leguminosarum* : mazărea (*Pisum sativum*), mazărea de cîmp (*Pisum sativum arvense*), măzărichea (*Vicia sativa*), bobul (*Vicia faba*), lintea (*Lens aesculenta*), năut (*Cicer arietinum*).

Grupul fasolei = *Rhizobium phaseoli* : fasolea comună (*Phaseolus vulgaris*), fasolea mare (*Phaseolus coccineus*).

Grupul lupinului = *Rhizobium lupini* : lupinul galben (*Lupinus luteus*), lupinul albastru (*Lupinus angustifolius*), seradela (*Ornithopus sativus*).

Grupul soiei = *Rhizobium japonicum* : soia (*Glycine hispida*).

În această sumară listă nu au putut fi introduse decît acele grupe de plante leguminoase cărora le corespunde o anumită specie de *Rhizobium* cu o încadrare taxonomică deplin stabilită. Mai sînt şi alte grupe de plante leguminoase, mai puţin importante pentru agricultura din ţara noastră şi care intră în simbioză cu alţi reprezentanţi ai genului *Rhizobium* a căror specie încă nu a fost stabilită.

În general, toate solurile normale conţin bacterii de nodozităţi aparţinînd genului *Rhizobium*. Aceasta nu înseamnă însă că oricare specie de plantă leguminoasă găseşte în mod sigur specia de *Rhizobium* cu care să intre în relaţii simbiotice.

Pe de altă parte, nu toate tulpinile unei specii de *Rhizobium* sînt capabile să fixeze azotul molecular de care să beneficieze planta gazdă. Unele tulpini de bacterii de nodozităţi, deşi sînt capabile să formeze nodozităţi, trăiesc în mod parazit pe seama plantei. Aceste tulpini sînt numite tulpini ineficace.

Prin umare este necesar să urmărim la bacteriile de nodozităţi două caracteristici importante : specificitatea şi eficacitatea. Specificitatea este descoperită în momentul în care se constată că o cultură de bacterii este capabilă să formeze nodozităţi pe o anumită specie de leguminoase, sau pe speciile înrudite ca grup, iar eficacitatea se constată în cazul în care

Scanned with OKEN Scanner

în condiţii de mediu lipsit de azot plantele vegetează normal, prin urmare, reuşesc să asimileze azotul necesar formării masei vegetale.

Există o serie de metode care permit să se aprecieze cu suficientă siguranţă dacă în nodozităţile de pe rădăcinile leguminoaselor se găsesc bacterii eficace. S-a constatat că acest caracter de eficacitate este strîns corelat cu aspectul nodozităţii. Aceasta trebuie să fie dezvoltată normal (mărimea nodozităţii este caracteristică pentru diferitele specii de plante leguminoasè) şi să aibă miezul roşu. Această culoare este dată de un pigment numit leghemoglobină care joacă un rol însemnat în procesul fixării azotului. Nodozităţile cu miezul alb-gălbui sau verde conţin bacterii ineficace, parazite. În legătură cu specificitatea bacteriilor de nodozităţi, se poate vorbi de o anumită latură a acestora şi anume de capacitatea de competiţie a unei culturi bacteriene în raport cu alte tulpini specifice existente în sol. O astfel de caracteristică se determină în parcele experimentale în cîmp, unde se aplică tratamentul bacterian, comparîndu-se producţia parcelei tratate cu producţia parcelei martor, care nu a primit tratamentul bacterian. Dacă în sol există în mod natural bacterii simbiotice eficace atunci producţiile dintre parcelele comparate nu vor diferi, sau diferenţele vor fi mici.

Cercetările din ultimii ani se preocupă intens de încă o cauză care poate face ineficace bacterizarea cu Nitragin; este vorba de existenţa în sol a unor bacteriofagi anti-*Rhizobium*, care în prezenţa unor tulpini de bacterii fago-sensibile sînt cauza lizării bacteriilor de nodozităţi. Pentru evitarea acestui fenomen păgubitor, culturile de *Rhizobium* destinate producerii de biopreparate sînt testate privind rezistenţa la bacteriofagi, obţinîndu-se pe această cale, sau prin lucrări speciale de laborator, tulpini de *Rhizobium* bacteriofago-rezistente.

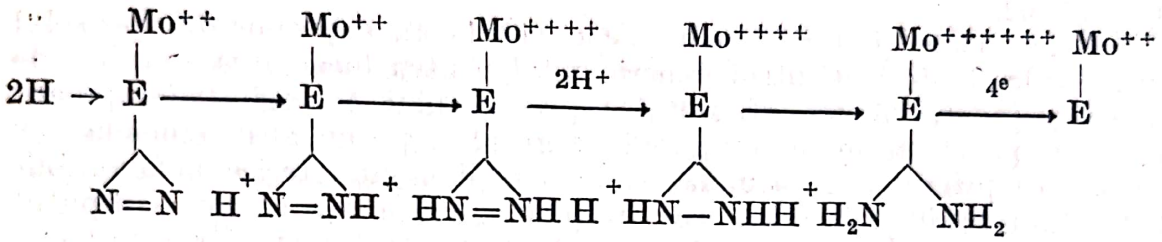
Mecanismul fixării azotului molecular pe cale simbiotică, deşi a preocupat şi preocupă încă numeroşi cercetători, nu este pe deplin clarificat. Virtanen şi Laine (1939) au emis ipoteza că prima treaptă a sintezei bacteriene a proteinei o constituie acidul aspartic. Azotul atmosferic este probabil fixat ca hidroxilamină. Această ipoteză se bazează pe rolul acidului oxal-acetic care reprezintă scheletul de carbon de care se leagă hidroxilamina, rezultînd oxima acidului oxal-acetic. Din aceasta ia apoi naştere acidul aspartic. Planta gazdă furnizează energia necesară fixării sub formă de compuşi fosforici bogaţi în energie (ATP, ADP şi AMP). Cercetări mai recente (Esam şi colab., 1971) demonstrează că leguminoasele folosesc în acest scop jumătate din fosforul pe care-l absorb.

Rolul leghemoglobinei din nodozităţi este de a lega oxigenul din aer şi de a-l transmite substratelor oxidabile. În condiţii normale, cînd planta gazdă aprovizionează bacteriile de nodozităţi cu suficientă energie, leghemoglobina cedează oxigenul atît de repede, încît prezenţa oxihemoglobinei colorate în roşu este în permanenţă asigurată.

Ipoteza emisă de Virtanen şi colab. a suscitat numeroase critici (Winogradsky, 1938; Allison şi colab. 1940; Fedorov, 1948).

Scanned with OKEN Scanner

Rolul bacteriilor din nodozităţi în procesul fixării azotului atmosferic a fost definitiv demonstrat în urma experienţelor cu ^{15}N. Bonnier şi Brakel (1969) au arătat că bacteriile din nodozităţi conţin „nitrogenaza", enzima specifică responsabilă a fixării azotului atmosferic. Autorii consideră posibilă fixarea azotului după schema propusă de Florkin şi Schoffeniels :



În această schemă, oxidarea progresivă a molibdenului permite fixarea hidrogenului pe atomii de azot, ducînd în cele din urmă la separarea lor din moleculă şi formînd două fracţii aminice. Acestea prin transmitere sînt preluate de acizii cetonici. Lanţul de transfer al electronilor aduce molibdenul la valenţa sa iniţială.

1.1. IZOLAREA CULTURILOR PURE, PRODUCEREA ŞI UTILIZAREA BIOPREPARATULUI NITRAGIN

Cele mai reuşite izolări de culturi pure de bacterii simbiotice se realizează prin extragerea lor din nodozitate. Izolarea lor din sol este mult mai greoaie şi chiar nerecomandabilă, existînd posibilitatea de a confunda la început bacteriile de nodozităţi din genul *Rhizobium* cu bacteriile *Agrobacterium tumefaciens* şi *Agrobacterium radiobacter*, cu care morfologic şi cultural se aseamănă foarte mult. Izolarea speciilor de *Rhizobium* direct din nodozitate prezintă şi avantajul cunoaşterii exacte a speciei şi a eficienţei, datorită aspectului general al nodozităţii şi al plantei de la care s-a recoltat nodozitatea.

Primele încercări de izolare a bacteriilor de nodozităţii în scopul producerii unui preparat destinat tratării seminţelor de soia din România au fost efectuate în 1935. În 1936 s-a verificat un preparat pe bază de *Rhizobium japonicum* (Vaccin ICAR pentru soia) şi au fost produse şi distribuite în diferite zone pedoclimatice din ţară 6000 de flacoane din acest preparat. Verificarea eficacităţii acestui preparat s-a făcut în staţiunile experimentale ale Institutului de cercetări agronomice al României din localităţile : Tg. Frumos, Cîmpia Turzii, Cenadul Mare, Valul lui Traian, Moara-Domnească. Rezultatele obţinute au fost încurajatoare. După al doilea război mondial acţiunea de producere a preparatelor pe bază de bacterii de nodozităţi a reînceput în laboratorul de microbiologia solului din ICAR, pe baza unui proces tehnologic pe substrat de pămînt în amestec cu nisip şi carbonat de calciu.

Preparatul s-a numit Nitragin şi cuprindea un sortiment larg : Nitragin-soia, Nitragin-mazăre, Nitragin-măzăriche, Nitragin-lucernă, Nitragin-trifoi, Nitragin-fasole şi Nitragin-lupin.

Scanned with OKEN Scanner

Verificarea însuşirilor productive ale Nitraginului, efectuată în 1951 de către B r i c i şi colab. (1952), a arătat la 6 soiuri de soia un spor mediu de 390 kg/ha (36%).

Anticipînd producerea industrială a Nitraginului pe substrat de agar şi continuînd verificarea calităţiior sale simbiotice, în 1958, 1959 şi 1960 au fost întreprinse experienţele ale căror rezultatele le redăm în tabelul 62.

N i c o l a e şi C r e m e n e s c u (1961) au experimentat pe solul brun podzolit de la Centrul experimental pentru încercarea soiurilor de la Oarja-judeţul Argeş, eficacitatea preparatului Nitragin-trifoi produs pe agar, pe un agrofond cu gunoi de grajd şi pe un altul amendat cu calcar. În primul an, 1959, datorită condiţiilor climaterice nefavorabile trifoiul nu a atins înălţimea necesară pentru cosire, aşa că nu s-au putut obţine rezultate. În anul următor, 1960, efectul tratamentelor a fost evident după cum se poate observa din tabelul 63.

Experienţa de mai sus confirmă eficienţa tratamentului bacterian chiar în condiţiile neprielnice ale unui sol acid, dacă se administrează amendamente. Gunoiul de grajd în absenţa bacterizării a asigurat sporul cel mai mare de recoltă. Cu toate acestea, bacterizarea pe fond cu gunoi de grajd a permis obţinerea unui spor de recoltă de 534 kg/ha, foarte bine asigurat statistic.

Tabelul 62

Rezultatele privind aplicarea Nitraginului în perioada 1958–1960 (după N e g r e a n u şi colab., 1959)

Cultnra	Nr. de experienţe	Media Spor de producţie kg/ha
Mazăre (boabe)	9	290
Fasole	10	170
Soia	9	210
Lucernă fin (primul an)	1	400
Trifoi fin (primul an)	1	920

Tabelul 63

Producţia de trifoi -fin obţinută în anul 1960 în funcţie de tratamentele aplicate (după N i c o l a e şi C r e m e n e s c u, 1961)

	Sămînţă		D±m	S
	Nebacterizată kg/ha	Bacterizată kg/ha		
Neamendat–neîngrăşat	1370±40	1370±90	–	–
Var 4 t/ha	1833±50	3133±20	1300±58	22,4
Gunoi de grajd 30 t/ha	5166±40	5700±30	534±50	10,6

Scanned with OKEN Scanner

O nouă etapă în experimentarea şi producerea Nitraginului se desfăşoară începînd cu anul 1965 datorită cercetărilor întreprinse de B ă l a n în cadrul Institutului de Cercetări pentru cereale şi plante tehnice-Fundulea. Prin testări riguroase au fost selecţionate noi tulpini active-simbiotic, care au fost apoi în fiecare an încercate în experienţa de concurs în diferite staţiuni experimentale din ţară.

În tabelul 64 sînt prezentate efectele bacterizării asupra producţiei la soia cultivată în cîmpul experimental al Institutului Agronomic „Ion Ionescu de la Brad" din Iaşi, pe un cernoziom mediu levigat.

Observaţiile făcute de autori arată că, începînd din perioada îmbobocirii, plantele de la varianta martor (nebacterizată) au prezentat un aspect clorotic, manifestînd carenţă de azot, de asemenea o vigurozitate mai redusă în comparaţie cu celelalte variante (bacterizate).

Efectul bacterizării a ieşit în evidenţă în timpul vegetaţiei şi prin numărul şi mărimea nodozităţilor de pe rădăcinile plantelor din variantele cu sămînţa bacterizată. În timp ce la varianta martor au fost în medie la plantă 1,7—3,1 nodozităţi-mici, răspîndite pe întreg sistemul radicular, la variantele unde s-a aplicat bacterizarea, nodozităţile au fost numeroase şi mari. Valorile medii cele mai ridicate s-au înregistrat la tulpina SO 75 A cu 13,4—14,8 nodozităţi la plantă şi volumul total de

Tabelul 64

Efectul bacterizării asupra culturii de soia în anii 1966—1968 (după C a n ţ î r şi colab., 1963).

Varianta	Producţia (kg/ha)	Proteină brută (%)	Grăsimi (%)
SO 69	1660 +++	36,54	21,28
SO 75 A	1650 +++	36,59	21,22
SO 97	1621 +++	34,60	21,18
SO 69 A	1617 +++	36,35	21,43
SO 112	1540 ++	35,47	21,42
SO 78 A	1520 +	35,24	21,01
SO 78	1501 +	37,43	20,92
Nebacterizat	1343	32,16	21,81

485—502 mm³. Producţia de boabe a înregistrat sporuri faţă de varianta martor, la toate variantele cu tulpini bacteriene. Aceste sporuri diferă în funcţie de tulpina bacteriană şi de anul experimentării. În general, ca producţie s-au situat pe primele locuri varintele care corespund tulpinilor SO 69 şi SO 75 A, ambele cu sporuri distincte sau foarte semnificative.

Efectul bacterizării, după cum rezultă din datele prezentate în tabelul 64, se reflectă şi asupra conţinutului în substanţe proteice şi grăsime în boabe.

Scanned with OKEN Scanner

Astfel se înregistrează o sporire medie a substanţelor proteice cu 2,50 — 2,70% în comparaţie cu varianta martor, în timp ce conţinutul de grăsimi scade cu 0,38 — 0,89%. Sporul total de substanţe proteice pentru producţia de boabe (substanţă uscată), raport la hectar, este de 135 kg pentru tulpina SO 69 şi 151 kg pentru tulpina SO 754 A. Făcînd un calcul similar, rezultă că faţă de producţia totală de boabe se înregistrează valori pozitive şi pentru conţinutul de grăsime 60 kg la hectar pentru tulpina SO 69 şi 58 kg/ha pentru tulpina 75 A.

Într-o serie de experienţe similare, efectuate de B ă l a n în colaborare cu cercetători de la diferite staţiuni experimentale, s-au obţinut rezultate care confirmă eficienţa frecvent ridicată a tulpinilor SO 69, SO 69 A, SO 75 A şi SO 78. De pildă, pentru tulpina SO 69, în experienţe pe teren neirigat s-au obţinut la Centrul experimental agricol Săftica-Ilfov (sol brun-roşcat de pădure) un spor mediu de 410 kg/ha (39% faţă de martor); la Staţiunea experimentală agricolă Livada-Satu-Mare (sol puternic acid) 480 kg (22,7%); la Staţiunea experimentală agricolă Tîrgu-Mureş (sol aluvionar) un spor de 417 kg (22%). Sporurile au fost mai mari în culturile irigate, situîndu-se frecvent pe primul loc tot tulpina SO 69. Astfel, la Staţiunea experimentală agricolă Caracal s-a obţinut un spor de 527 kg/ha (26,9%); la Staţiunea experimentală agricolă Chiscani- Brăila (sol cernoziom castaniu carbonatic) 790 kg (35%); la Centrul experimental agricol Coţofeni-Dolj 1050 kg (56%); la Staţiunea experimentală agricolă Mărculeşti-Ialomiţa (sol cernoziom castaniu) un spor de 1300 kg (99%). Astfel de rezultate sînt în acord cu unele date din literatura mondială. Se citează că H y m o w i t z de la Universitatea Urbana, Statul Illinois, a obţinut prin bacterizare la soia, sporuri pînă la 1476 kg/ha (73,4%) faţă de martor.

B ă l a n şi colab. (1973) au găsit în culturile bacterizate, pe lîngă sporurile de producţie semnalate şi o creştere a conţinutului de azot proteic în boabe. D a w s o n (1970) R o l l c e r şi O b a t o n (1970) etc, au semnalat de asemenea o sporire a conţinutului boabelor de soia în lizină (R a i c e v a şi S i m e o n o v, 1972) şi vitamine (S k r d l e t a, 1971).

Experienţele efectuate în diferite Staţiuni experimentale din ţară, au scos totodată în evidenţă relaţia ce există între aprovizionarea cu azot a solului prin fertilizare cu îngrăşăminte minerale şi aplicarea tratamentului cu Nitragin. În tabelul 65 se prezintă rezultatele obţinute (N. H u l p o i şi colab. 1971).

Se constată, în general, că pe solurile bine aprovizionate cu azot (soluri cu fertilitate naturală ridicată) tratamentul bacterian a dat cele mai ridicate sporuri de recoltă, fertilizarea cu azot fiind lipsită de eficienţă sau chiar dăunătoare (Fundulea, Valul lui Traian şi Mărculeşti). Pe solurile mai sărace, o doză mică de azotat de amoniu (N_{30}) poate asigura o sporire a eficacităţii Nitraginului cu circa 70 — 500 kg/ha (Caracal şi respectiv Albota). Paralel cu experimentarea care demonstra rentabi-

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 65

Influenţa tratamentului bacterian (Nitragin) asupra producţiilor de soia în condiţiile fertilizării cu diferite doze cu azot şi fosfor mineral —q/ha— (după H u l p o i şi colab., 1971)

Agrofond	Tratamentul	Localitatea				
		Fundulea	Caracal	Albota	Valul lui Traian	Mărculeşti
N_0P_{50}	Nebacterizat	22,6	28,0	14,4	18,9	15,0
	Bacterizat	27,1	28,3	19,9	26,0	22,9
$N_{30}P_{50}$	Nebacterizat	23,1	28,0	21,4	20,1	17,3
	Bacterizat	26,7	29,0	24,9	25,3	21,2
$N_{60}P_{50}$	Nebacterizat	24,7	28,1	20,5	23,1	20,0
	Bacterizat	26,1	29,0	21,0	25,0	23,4
$N_{90}P_{50}$	Nebacterizat	25,5	—	23,0	26,3	20,6
	Bacterizat	25,3	—	24,3	27,1	22,1

litatea tratamentului cu Nitragin la soia, s-a dezvoltat şi producţia sortimentului cu Nitragin, pentru alte plante leguminoase, suprafeţe din ce în ce mai mari fiind însămînţate cu seminţe bacterizate. Pe această cale s-a obţinut, de exemplu, la I.A.S. Mînăstirea, jud. Ilfov, pe o suprafaţă de 25 hectare cultivate cu mazăre, un spor de recoltă de 688 kg/ha comparativ cu cultura martor (nebacterizată) care a dat o producţie medie de 1131 kg/ha, iar la I.A.S. Devesel, jud. Olt, la cultura fasolei tratată cu Nitragin s-a obţinut un spor mediu de recoltă de 112 kg/ha pe o suprafaţă de 5 ha. Aplicarea Nitraginului la cultura de lucernă la Fierbinţi, jud. Ilfov, a dat un spor de recoltă de 400 kg fîn la hectar. B ă l a n şi colab. (1974) raportează sporuri de producţie la lucernă, care au variat la S.E. Livada între 130 — 2400 kg/ha, în anii 1967 — 1971. La S.E.A. Caracal, sporul obţinut a fost în jur de 300 kg/ha, la S.E.A. Podul Iloaiei şi S.A. Bechet în jur de 2000 kg/ha.

1.2. CONDIŢIILE DE CARE DEPINDE REUŞITA TRATAMENTULUI CU NITRAGIN

Din cele arătate anterior reiese că prin folosirea culturilor de bacterii din genul *Rizobium* se pot obţine la leguminoase importante sporuri de producţie. Un astfel de rezultat se obţine însă numai dacă sînt îndeplinite anumite condiţii :

a) **Să se folosească un preparat de calitate.** Anterior am arătat că sporurile de producţie înregistrate s-au obţinut prin folosirea unor tulpini de *Rizobium* selecţionate (SO 69 ; SO 69 A ; SO 75 A ; SO 78). Aceste tulpini servesc în România la producerea Nitraginului pentru soia. Pentru fiecare grup de leguminoase s-au selecţionat asemenea tulpini specifice şi eficiente. Procesul de producţie a Nitraginului, la nivelul a cîteva sute

Scanned with OKEN Scanner

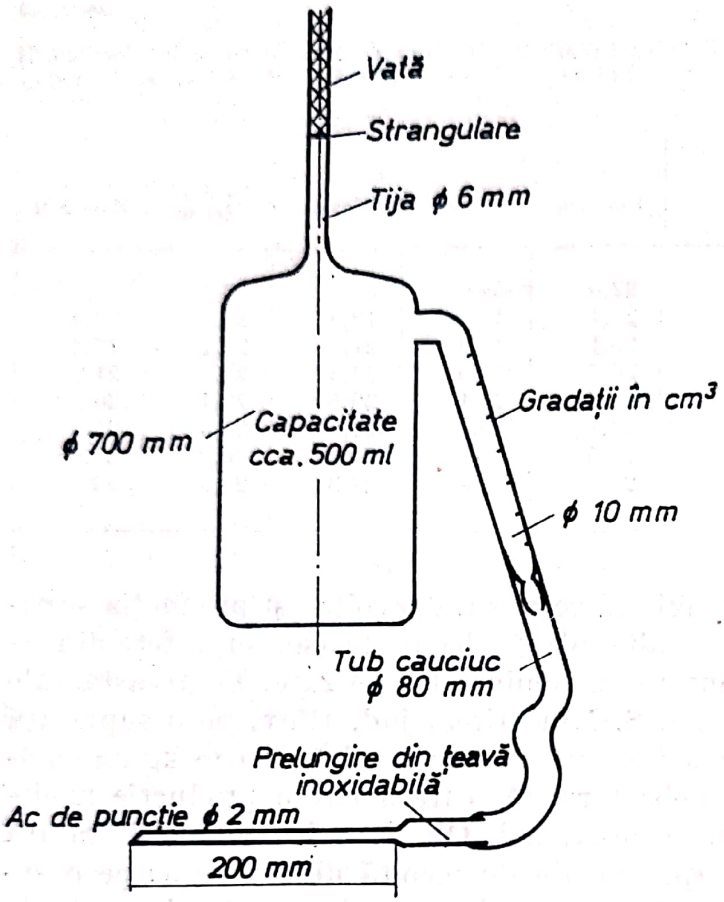


Fig. 66. Pipetă specială de inoculare (după Ştefanic, 1960)

de mii de flacoane necesare economiei naţionale, presupune respectarea foarte strictă a unor condiţii, deoarece cele mai mici deficienţe organizatorice sau tehnice pot influenţa calitatea preparatelor şi implicit a producţiei agricole.

Culturile destinate producţiei, după o incubare la 28°C pe mediu agarizat, timp de 7—10 zile se păstrează la 4°C. Fiecare flacon cu inocul serveşte la producerea a 1000 de flacoane Nitragin. Inocularea flacoanelor Roux (în fiecare campanie de fabricaţie sînt cîteva sute) se face cu o pipetă specială, care permite absorbirea cantităţii necesare de apă sterilizată, transferarea ei aseptic în flaconul de cultură şi inocularea în fracţiuni de 4 ml. În fig. 66 se dă o astfel de pipetă (model Ştefanic). Aceeaşi pipetă serveşte (în a doua etapă) la trecerea culturii din flacoane Roux în baloane cu apă sterilizată (4 litri), în care se realizează astfel o suspensie densă de bacterii. Baloanele prevăzute cu sondă şi contrapresiune se racordează la aparatul de inoculare (fig. 67).

Incubarea (la 26 — 28°C) durează 4 zile la culturile cu creştere rapidă şi 7 zile la culturile cu creştere lentă. După această etapă se face controlul macroscopic al preparatelor (la toate flacoanele) şi controlul de puritate (la cîte un flacon din fiecare lot provenit dintr-un balon-inocul), pe bulion de carne peptonat (sau pe lapte turnesolat pentru *R. meliloti*).

Flacoanele de Nitragin sînt apoi lăsate în continuare timp de 3 zile a 15 — 18°C, după care sînt etichetate şi ambalate.

Acest procedeu de producere a Nitraginului pe substrat agarizat a fost introdus în România de Ştefanic înlocuind vechiul procedeu de producţie pe substrat de pămînt în amestec cu carbonat de calciu şi nisip.

Nitraginul pe substrat de agar prezintă o serie de avantaje faţă de cel pe substrat de pămînt:

— se pot asigura preparate cu înaltă puritate biologică;

Scanned with OKEN Scanner

— preparatul comercial conţine un număr mai mare de celule bacteriene viabile decît cel produs pe substrat de pămînt;

— accidental, dacă apar infecţii după efectuarea controlului de calitate, prin condiţii necorespunzătoare de transport sau păstrare, o simplă observaţie macroscopică permite eliminarea preparatului de la tratarea seminţelor;

— greutatea redusă la transport;

— spălarea culturii, prepararea suspensiei şi tratarea seminţelor se face mai uşor şi mai curat;

— preţ de cost mai redus.

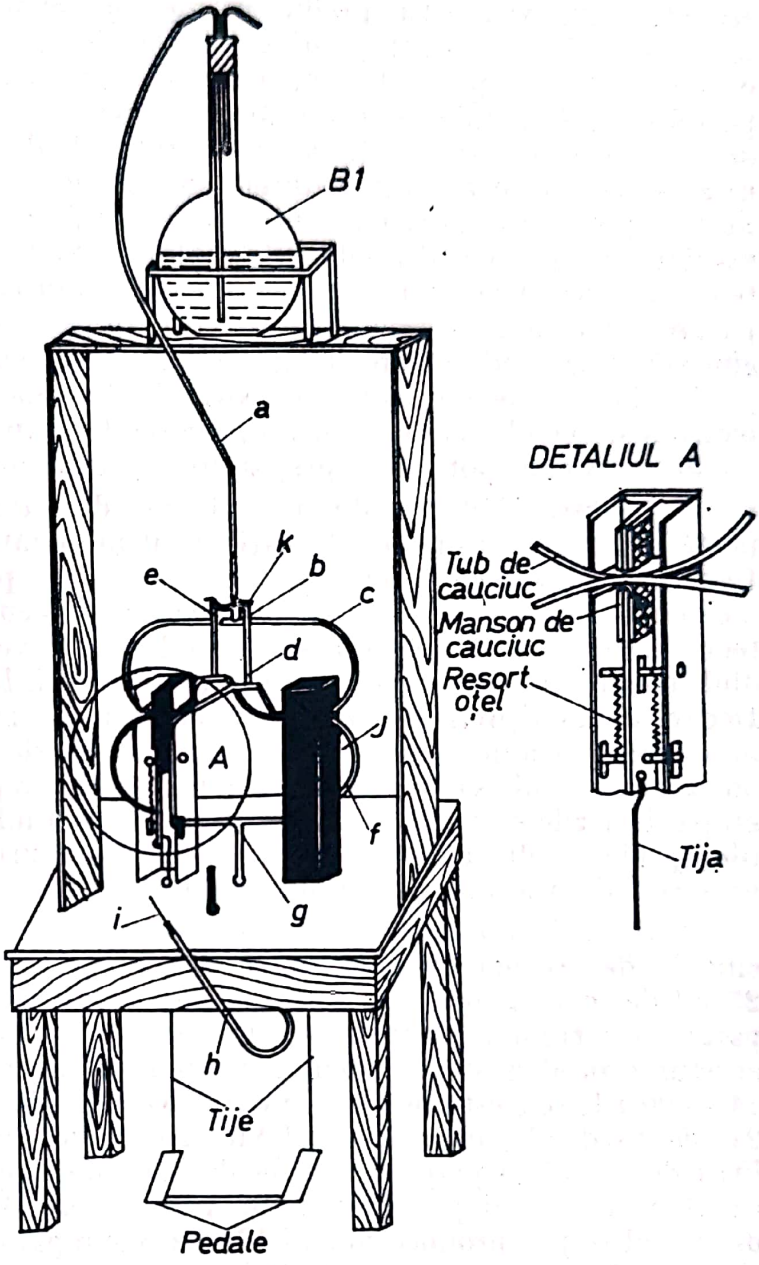


Fig. 67. Balon cu inocul şi aparat de inoculare (după D r ă g u ş a n u , 1960)

Una din problemele controversate, aceea a perioadei de valabilitate a preparatului Nitragin şi a eficacităţii pe plante, legate de calitatea substratului pe care se dezvoltă cultura de *Rhizobium*, a fost abordată de Ş t e f a n i c şi colab. (1960).

Cercetările au arătat că indiferent de sursa energetică (zahăr comercial, melasă sau glucoză) folosită la producerea Nitraginului pe substrat de agar, eficacitatea produsului nu e cu nimic diminuată. În general mediul sintetic W r i g h t suplimentat de L a z a r e v a (1971) cu microelemente, este superior mediului cu decoct de fasole (mai ales în variantele în care s-a utilizat glucoza ca sursă de energie pentru *Rhizobium japonicum* şi zahărul comercial pentru *Rhizobium phaseoli*), şi cu preţ de cost mai

scăzut. Între Nitraginul produs pe agar şi cel produs pe pămînt nu au fost deosebiri semnificative cu privire la eficacitate, indiferent de timpul de păstrare a preparatului. Prin urmare, afirmaţia că Nitraginul produs pe substrat de pămînt ar fi de calitate superioară celui produs pe substrat de agar nu este justificată. De altfel, culturile de *Rhizobium* sînt păstrate în colecţie ani de zile pe medii cu agar şi nu-şi pierd însuşirile, aşa încît nu şi le pot pierde în cele 3 luni cît durează perioada de păstrare a preparatului (din momentul producerii şi pînă în momentul bacterizării seminţelor de leguminoase). În legătură cu substanţa energetică folosită la prepararea Nitraginului-soia este necesar să se menţioneze că deşi între glucoză şi zahărul comercial nu sînt diferenţe semnificative sub raportul producţiilor de boabe, calitatea Nitraginului-soia diferă sub raportul numărului de celule bacteriene, fapt deosebit de important pentru producţia de serie cînd pot apare preparate cu un număr prea mic de germeni.

Prepararea Nitraginului pe substrat de pămînt sau pe turbă comportă mai multe etape de fabricaţie decît prepararea Nitraginului pe agar. Dat fiind faptul că inocularea amestecului de pămînt sau de turbă se face cu mediul în care s-a dezvoltat cultura inocul (în felul acesta amestecurile de substrat primesc substanţele nutritive şi energetice din mediul inoculului), este nevoie să se producă medii lichide în cantităţi mari. Deoarece înmulţirea unei culturi bacteriene nu se poate face decît dacă se asigură un număr minim obligatoriu de celule viabile odată cu inocularea, este nevoie să se realizeze o înmulţire în trepte. Astfel, într-o primă etapă de 7 zile se produce un inocul de cca 300 ml plecînd de la o cultură (de eprubetă) din colecţie. În etapa a II-a, cantitatea de 300 ml inocul este transferată într-un balon cu 5000 ml de mediu nutritiv.

După o incubare de 7 zile, se trece la inocularea din etapa a III-a cînd în fiecare borcan cu amestec de pămînt sau turbă se introduc cîte 25 ml de inocul, rezultînd astfel un număr de 120 de flacoane de biopreparat care trebuie să fie şi ele incubate timp de 7 zile. Dezavantajele acestui procedeu sînt evidente. Timpul de fabricaţie se lungeşte de la 14 — 20 zile (cît este necesar în cazul Nitraginului pe agar) la cel puţin 21 zile. Pe de altă parte în cazul Nitraginului pe substrat de agar, dintr-un litru de inocul se prepară 500 de flacoane de biopreparat, în timp ce în cazul Nitraginului pe substrat de pămînt sau de turbă, dintr-un litru de inocul se pot produce numai 120 de biopreparate. De aici rezultă cantitatea mărită de inocul ce trebuie pregătită pentru Nitraginul cu turbă sau pămînt, consumul ridicat de substanţe pentru mediile de cultură şi prelungirea timpului de fabricaţie.

În ţări cu tradiţie în folosirea preparatelor pe bază de *Rhizobium* cum este Australia, pentru obţinerea unor cantităţi mari de inocul se folosesc fermentatoare, unde culturile se dezvoltă în medii lichide agitate şi aerate. Inoculul produs este injectat în pungi de plastic în care se găseşte turbă special preparată.

Dintre ambalajele folosite experimental la livrarea biopreparatului pe substrat de pămînt sau turbă menţionăm : flacoane din sticlă închise cu dop de vată, borcane din sticlă închise cu capac din tablă şi parafinate, cutii metalice ermetic închise sau pungi de polietilenă. R o u g h l e y

(1970) arată că prin păstrarea biopreparatului în flacoane închise cu dop de vată se obţine cea mai bună păstrare a viabilităţii bacteriilor.

Temperatura cea mai potrivită de păstrare a biopreparatului, indiferent de substratul pe care a fost produs, sau de ambalajul în care este livrat, este de 4°C. Astfel, durata păstrării poate fi prelungită foarte mult timp. Este recunoscut faptul că preparatele pe turbă sau pămînt au cea mai lungă valabilitate.

În condiţiile ţării noastre, la Nitraginul produs pe agar sporul de producţie la fasole şi la soia, s-a menţinut şi în cazul în care păstrarea preparatelor s-a făcut timp de 1—8 luni. Urmărind numărul bacteriilor viabile în biopreparate, în momentul tratării seminţelor pentru semănat, se constată întradevăr o scădere importantă a titrului bacterian în variante de Nitragin produsă pe mediul agarizat, comparativ cu varianta de Nitragin produsă pe pămînt. Ţinînd însă seama de faptul că pe mediul agarizat titrul bacterian iniţial a fost mai mare, în varianta Nitragin-agar au ajuns pe sămînţă de trei ori mai multe bacterii.

În concluzie, în condiţiile unei producţii mici de Nitragin, cu o distribuţie pe un teritoriu în rază de cîteva sute de kilometri (ca în cazul României), producerea Nitraginului pe agar apare mai avantajoasă din punct de vedere tehnic şi economic.

Controlul macroscopic al calităţii Nitraginului poate şi trebuie să fie făcută de fiecare inginer agronom înaintea întrebuinţării. Se vor elimina în primul rînd flacoanele ce conţin mucegaiuri (acestea nu trebuie în niciun caz să ajungă pe sămînţă), apoi flacoanele în care cultura bacteriană nu acoperă în proporţie de cel puţin 3/4 suprafaţă mediului agarizat. Preparatul trebuie să se prezinte sub forma unui mucilagiu întins pe suprafaţa substratului solidificat cu agar, sau scurs la baza flaconului.

Controlul microscopic se face numai în cazuri speciale, după tehnica pe care o descriem mai jos.

La microscop, bacteriile de nodozităţi se prezintă (în stare vie) sub forma unor bastonaşe mobile, de 1—5μ lungime şi 0,2—0,3μ grosime. Celulele din culturile mai bătrîne se prezintă sub forma unor bastonaşe mai mari, simple sau ramificate în X, Y sau T, denumite *bacteroizi*. Pe frotiuri se colorează cu fucsină bazică Pfeiffer, cele foarte tinere în mod uniform, cele mai bătrîne prezentînd aglomerări de colorant — granule metacromatice — mai ales spre capete.

Se obişnueşte să se efectueze şi o serie de controale de puritate, prin transferuri pe lapte turnesolat şi pe bulion de carne peptonat lichid. Toate speciile de *Rhizobium*, cu excepţia lui *Rhizobium meliloti*, alcalinizează laptele şi nu cresc evident (nu tulbură, nu fac peliculă sau sediment) pe bulionul de carne. Controlul pe plante se face fie în eprubete pe mediu special solidificat cu agar, pe care se dezvoltă plantulele din seminţele tratate cu cultura de *Rhizobium*, fie în vase de vegetaţie cu nisip de cuarţ impregnat cu soluţii nutritive lipsite de azot. În astfel de situaţii se urmăreşte apariţia nodozităţilor pe rădăcini şi modul cum plantele se dezvoltă, comparativ cu cele crescute aseptic pe mediu nutritiv sau pe nisip impregnat cu soluţii nutritive lipsite de azot.

b) **Să se asigure condiţii favorabile de pH în sol** în perioada de timp necesară formării rădăcinilor leguminoasei gazdă.

Scanned with OKEN Scanner

Reacţia acidă a solului limitează în cea mai mare măsură supravieţuirea bacteriilor de nodozităţi, deşi unele tulpini de *Rhizobium japonicum* şi *R. lupini* rezistă la un pH = 3,15 — 3,30. Totuşi cele mai multe tulpini şi specii de *Rhizobium* prezintă o activitate redusă în condiţii de pH scăzut. La început, acţiunea dăunătoare a acidităţii solului se manifestă în mod direct, deoarece bacteriile trăiesc în mod liber în jurul seminţelor. Ulterior, ele beneficiază de condiţiile mediului intern al perişorului radicular, care le protejează de condiţiile nefavorabile ale mediului extern.

În afara reacţiei acide a solului, lipsa calciului pe astfel de soluri reprezintă una din cauzele slabei activităţi simbiotice.

c. **Umiditatea solului** influenţează mai ales în perioada germinării seminţelor. Faptul că unele leguminoase se însămînţează superficial, creează premizele unei menţineri mai îndelungate sau mai scurte a seminţelor într-un strat uscat de pămînt. Sămînţa va germina în mod normal în momentul în care umiditatea solului îi va permite; bacteriile de nodozităţi de la suprafaţa seminţelor vor suferi de pe urma uscăciunii, pînă la limita reducerii efectului bacterizării. În astfel de situaţii nodozităţile ce vor apare pe rădăcinile plantelor vor fi puţine la număr şi multe plante chiar nu vor avea nodozităţi. F o u l d s (1971) a găsit că o secetă de 14 zile reduce de 100 de ori numărul nodozităţilor. Tehnica pralinării seminţelor, asigură bacteriilor condiţii de protecţie mai bune şi prin urmare o eficienţă sporită. Totuşi măsura cea mai eficace este irigarea cu o cantitate mică de apă în primele zile după semănat.

În ţara noastră, seceta şi temperaturile ridicate sînt deseori simultane. Este cunoscut faptul că bacteriile de nodozităţi se dezvoltă bine la temperatura de 26—28°C, că suportă mult mai bine temperaturile mai scăzute decît cele ridicate. La temperaturi peste 30°C nu se mai formează nodozităţi pe rădăcini (B e r e z o v a şi colab., 1955). Bacteriile de nodozităţi sînt foarte rezistente la temperaturile sub 0°C. În sol aceste bacterii au putut supravieţui unei temperaturi de —190°C, timp de 6 ore. Ceea ce le dăunează foarte mult, sînt schimbările bruşte de temperatură, îngheţurile şi dezgheţurile repetate.

d. **Gradul de aerare al solului** joacă un rol important în înmulţirea bacteriilor de nodozităţi şi la formarea nodozităţilor. S-a stabilit că solurile bine aerisite (luto-nisipoase) favorizează formarea nodozităţilor şi dimpotrivă, în solurile cu aerisire slabă (argiloase) numărul nodozităţilor scade. Legat de aceasta este bine să se ţină seama de modul cum se execută lucrările de irigare, pentru că o irigare cu norme mari de apă şi mai ales condusă incorect, poate crea o stare de imbibare a solului cu apă, băltire şi ca urmarea o aerare insuficientă. S-a stabilit că pentru bacteriile de nodozităţi, optimul umidităţii este între 40—60% din capacitatea totală pentru apă a solului.

e. **Fertilizarea solului cu azot mineral** s-a dovedit în numeroase experienţe ca fiind dăunătoare atît formării nodozităţilor, cît şi fixării simbiotice a azotului atmosferic. A fost exprimată presupunerea că lipsa nodozităţilor la plantele leguminoase, în cazul dozelor mari de azot, s-ar datora insuficienţei hidraţilor de carbon din rădăcini. Cînd azotul este în exces, toţi hidraţii de carbon sînt folosiţi de către plantă pentru sinteza

proteinelor şi ca urmare bacteriile duc lipsă de material energetic. Apariţia relaţiei simbiotice dintre leguminoase şi bacteriile genului *Rhizobium* se datoreşte adaptării la un dezechilibru în bilanţul azotului, unei carenţe în aprovizionarea cu azot a plantelor. Se ştie că fixarea simbiotică a azotului este reglată de raportul carbon/azot din seva leguminoaselor. În aceste plante, fotosinteza (care furnizează glucidele) şi fixarea azotului se petrec într-un asemenea ritm, încît raportul C/N să se menţină la un anumit echilibru.

În condiţiile administrării de îngrăşăminte cu azot, mai ales în cantităţi mari, formarea nodozităţilor este împiedicată, iar activitatea enzimei care fixează azotul (nitrogenaza) este inhibată (Bezdiceck şi colab., 1974) planta leguminoasă devenind o consumatoare de azot ca oricare altă specie de plante, ba chiar, o mare consumatoare de azot, dat fiind metabolismul ei dirijat spre acumularea cu precădere a proteinelor (Bonier şi Brakel, 1969). Fedorov şi Kozlov (1954) experimentînd cu fasole şi soia bacterizate, pe nisip de cuarţ, cu doze diferite de azot, au constatat că cea mai puternică fixare a azotului atmosferic s-a produs la 0,4—0,8 din norma de azot (soluţia Hellriegel—84 mg/1 kg de nisip). Dozele mai mari au micşorat fixarea azotului şi în cazul dozei duble, fixarea s-a întrerupt.

În experienţe hidroponice s-a introdus azotul după apariţia nodozităţilor. Mărirea numărului de nodozităţi s-a observat în variantele cu 0,4 şi 0,5 din norma de azot. Mărirea concentraţiei de azot a dus la dispariţia nodozităţilor existente. După consumarea excesului de azot, nodozităţile au început din nou să apară. Cînd rădăcinile de fasole sau soia au fost despărţite în două şi fiecare parte a fost pusă în soluţii nutritive cu diferite doze de azot, s-a observat că pe rădăcinile crescute în soluţia cu doza mică de azot s-au format nodozităţi, iar în cealaltă parte a rădăcinii, nodozităţile au lipsit. Neformarea de nodozităţi pe rădăcinile plantelor crescute în medii cu concentraţii mari de azot este o consecinţă a faptului că în astfel de condiţii pereţii celulei ţesutului radicular se îngroaşă, fapt ce împiedică pătrunderea bacteriilor.

Soluţia cea mai potrivită este ca leguminoasele să nu fie fertilizate cu azot (mai ales în cazul în care acesta s-a dat la planta premergătoare). După două săptămîni de la răsărirea plantelor, se va face controlul nodozităţilor apărute şi dacă ele sînt în număr satisfăcător se va renunţa definitiv la folosirea azotului mineral. În caz contrar se va administra o doză mare de azot (N_{100}), dat fiind metabolismul cu specific azotofil al acestor plante.

f. **Fertilizarea cu molibden** a leguminoaselor îmbunătăţeşte considerabil efectul tratamentului (Giddens şi Perkins, 1973; Ghenţa Mihăilescu şi colab., 1973).

g. **Efectul negativ al substanţelor fitofarmaceutice.** Cercetările efectuate în ultimii ani au precizat în fiecare caz concret efectul pe care diferitele substanţe fitofarmaceutice îl au asupra microflorei. Rezultatele obţinute pe culturi de *Rhizobium* nu pot oferi în această problemă indicaţii certe deoarece s-a constatat că numeroase substanţe care nu afectează direct viabilitatea bacteriilor inhibă net formarea nodozităţilor

Scanned with OKEN Scanner

datorită modificărilor morfologiei rădăcinii într-un sens defavorabil simbiozei (Audus, 1970; Milică și colab., 1972; Brock, și colab., 1972). Ținînd cont atît de efectul pesticidelor asupra rădăcinii plantei, cît și asupra bacteriei, acestea pot fi clasificate astfel:

A. Pesticide stimulatoare

— Triazine (Kaszubiak, 1966; Rankov, 1966; Nepomiluev, 1969; Grossbard, 1970; Malamina și Nikitin, 1971).

Excepție: Inhibă formarea nodozităților la *mazăre* (Avrov, 1966).

B. *Pesticide fără efect*

Acizi alifatici halogenați

Insecticide carbamice (Shing-Chsiang Lin și colab., 1972), dar netolerate de Rhizobium trifolii și Leguminosarum.

C. Pesticide inhibitoare

I. *Slab toxice sau fără efect*

Tiolcarbamați (Grossbard, 1970; Dunnigan și colab., 1973).

Fenoxiacetice (Ahlgreey, 1953; Gillberg, 1971 etc.).

Pyrazon (Kaszubiak, 1966; Jensen, 1969; Grossbard, 1970).

II. *Toxice*

Ureice, inhibitoare mai ales pentru speciile de Rhizobium cu creștere lentă simbionți la soia și lupin (Kaszubiak, 1966; Dunnigan și colab., 1970 etc.).

Carbamați (Kaszubiak, 1966).

Toluidine — limita toxică la doza de 1 kg/ha substanță activă. Acționează numai asupra plantei, nu și asupra bacteriei (Brock, 1972).

Paraquat (Gramoxone), inhibitor mai ales la mazăre (Avrov, 1966; Maninger și colab., 1972; Szegy, 1974).

Carbetamid, acționează numai asupra plantei (Brock, 1972).

Cloramben (Gupta și Sund, 1970; Dunnigan și colab., 1973).

Insecticide organoclorinate (Audus, 1970; Gawaad și colab., 1972).

Scanned with OKEN Scanner

III. *Foarte toxice*

Fenoli substituiţi, efect mai slab la dinosebacetat (Kaszubiak, 1966—1968; Jensen, 1969 etc.).

h. **Insecticide organofosforice** (Gross şi Sheptom, 1965; Sallem şi colab., 1971; Shing-Chsiang-Lin şi colab., 1973).

O problemă specială, încă nerezolvată pe plan mondial, o constituie compatibilitatea dintre fungicidele cu care se tratează sămînţa leguminoaselor şi preparatele pe bază de *Rhizobium*, cu care acestea vin în contact direct. În cazul în care fungicidele inhibă puternic nodularea, folosirea simultană a ambelor produse este lipsită de sens. Kecskés (1970) a testat 34 de fungicide fără a găsi vreunul bine tolerat de către bacterii. Totuşi preparatele încercate de către el aveau o gamă largă de acţiuni, de la mediu, la foarte toxice.

Se poate afirma cu certitudine că fungicidele pe bază de mercur (periculoase şi din alte motive) sînt cele mai toxice pentru *Rhizobium* (Kadow şi colab., 1937; Hulea şi colab., 1963; Gillberg, 1971).

Preparatele pe bază de cupru au avut un efect foarte variabil, în funcţie de substanţa activă şi uneori chiar de diferitele formulaţii ale aceleiaşi substanţe active.

Fungicidele pe bază de sulf şi în general cele pur organice sînt mai bine suportate de către bacterii (Williams şi colab., 1960; Kecskés, 1970; Kutko şi Ujevic, 1970).

Cercetătorii australieni şi în mod deosebit Cass Smith şi Goss (1958), Loneragan şi colab. (1955) au pus la punct o metodă de tratare a seminţelor, adaptată condiţiilor ecologice din solurile acide. Această metodă constă esenţial în îmbrăcarea seminţei bacterizate într-un strat de cretă şi gumă arabică, care să protejeze bacteriile faţă de mediul ambiant nefavorabil.

Această metodă a dat rezultate foarte bune în zonele intertropicale, precum şi în Australia şi Noua-Zeelandă în condiţii de pH sub 5,5.

Rezultate recente (tab. 66) obţinute la ICCPT-Fundulea arată că folosirea adezivilor reduce considerabil efectul negativ al tratării cu pesti-

Tabelul 66

Influenţa fungicidelor şi a condiţiilor de vegetaţie asupra greutăţii nodozităţilor(în g) la soia (după Ghinea, Roşca, Stoica, 1973)

Varianta	Cultură neirigată (Fundulea)		Cultură irigată (Mărculeşti)	
	Tratare cu suspensie	Tratare cu adezivi şi $CaCO_3$	Tratare cu suspensie	Tratare cu adezivi şi $CaCO_3$
Martor	3,760	0,594	1,980	4,54
Quinoleat 400	2,732	0,142	0,708	2,65
Captan 400	2,220	0,100	0,606	2,14
T.M.T.D. 400	1,494	0,128	1,684	2,00
Criptodin 200	0,094	—	0,178	—
Criptodin 400	0,044	0,058	0,042	2,48

Scanned with OKEN Scanner

cide. Din datele obținute, reiese și rolul foarte important al irigării după semănat, în cazul în care survine o secetă. Dintre fungicide (foarte toxice de obicei) au putut fi folosite cu succes oxichinoleatul de cupru, captanul și TMTD. G a u r și B h a r d w a j (1971) arată că eficacitatea inoculării cu *Rhizobium* (măsurată prin sporul de recoltă, intensitatea fixării azotului și conținutul nodozităților în leghemoglobina) sporește cu o treime dacă se adaugă și humat de sodiu în inocul.

i. **Microflora solului și cea rizosferică**, prin efectul lor antagonist față de *Rhizobium* pot opri formarea nodozităților. În sol pot exista numeroși bacteriofagi anti-*Rhizobium* (B ă l a n și colab., 1970). Preparatele Nitragin produse în țară noastră conțin însă tulpini fagorezistente selecționate la ICCPT-Fundulea (B ă l a n și colab., 1974).

j. **Evitarea greșelilor de tratare.** Practica demonstrează că tratarea necorespunzătoare este factorul care cel mai adesea împiedică obținerea rezultatelor scontate prin tratarea cu Nitragin.

O condiție esențială care trebuie respectată este aceea ca tratamentul să se facă la adăpost de razele soarelui, care au efect nociv asupra bacteriilor. Dacă conținutul în apă este bine reglat la tratare, semințele mai mari pot fi însămânțate fără o prealabilă uscare. Semințele de lucernă, de trifoi, trebuie întinse într-un strat subțire, la umbră, pentru a se zvînta și apoi se însămânțează, deoarece altfel se lipesc între ele. O altă condiție importantă pentru o bacterizare reușită constă în efectuarea acestei operații numai înaintea semănatului. Dacă după efectuarea tratamentului apar anumite cauze care nu permit efectuarea semănatului, sau determină întreruperea lui, este necesar ca pentru a doua zi, sau mai tîrziu, să se repete bacterizarea (bacteriile nu pot supraviețui mult timp pe suprafața seminței și după zvîntarea acesteia se reduce foarte mult numărul de bacterii viabile).

2. BIOPREPARATE CU MICROORGANISME SAPROFITE

2.1. BIOPREPARATUL AZOTOBACTERIN

Descoperirea existenței în sol a bacteriei *Azotobacter chroococcum* cu însușirea de a asimila azotul atmosferic i-a sugerat lui K o s t î c e v posibilitatea de a utiliza această bacterie ca biopreparat cu care să îmbogățească rizosfera plantelor, scontînd în acest fel o sporire a recoltelor agricole. În 1926, în U.R.S.S., K o s t î c e v și colab., au început experimentarea producerii acestui biopreparat, iar în 1930, s-a trecut la producerea lui pe scară industrială sub numele de Azotobacterin. Multă vreme acest biopreparat a fost considerat ca un analog al îngrășămintelor cu azot. Conform datelor experimentale obținute în U.R.S.S., între 1958—1960, numai 34% din încercări au dat rezultate pozitive privind creșterea recoltei. Chiar sporurile obținute au fost mici și nesemnificative, iar M i ș u s t i n (1970) arată că ele pot fi considerate ca erori experimentale.

Scanned with OKEN Scanner

În ţara noastră, prepararea şi experimentarea biopreparatului Azotobacterin a început în 1954. Pînă în 1958, experienţele de verificare a eficacităţii biopreparatului asupra recoltelor s-au efectuat în 30 de localităţi din ţară. În numeroase cazuri nu s-au obţinut sporuri de recoltă. Negreanu şi colab., (1959) atribuie eşecurile folosirii unor preparate prea vechi şi unor defecţiuni de aplicare a culturilor de *Azotobacter*. Experimentările riguroase executate la Institutul de Cercetări pentru Cereale şi Plante Tehnice pe soluri cernoziomice s-au soldat de asemenea cu eşecuri.

În ultimul timp, partizanii bacterizării apreciază că efectul favorabil depinde exclusiv de acţiunea asupra seminţei imediat după semănat (Smalîi şi Berşova, 1957; Burger şi Bukatsch, 1958).

Într-adevăr se ştie că *Azotobacter chroococcum* sintetizează numeroase substanţe biologic active (acid nicotinic şi pantotenic, piridoxină, biotină, heteroauxină, gibberelină etc.). Raznîţîna (1938) a fost prima cercetătoare care a detectat în culturile de *Azotobacter*, substanţe asemănătoare auxinelor. Bukatsch şi colab. (1956) au identificat acidul indolil-acetic în culturile de *Azotobacter*, iar Vancura (1961) a găsit acid gibberelinic. Gheorghiu şi Mănucă (1961) au pus în evidenţă efectul auxinic al tulpinii 100 (folosită la experienţele de bacterizare din România) de *Azotobacter chroococcum*. Efectul auxinic s-a manifestat la grîu, porumb şi ovăz.

Brown şi colab. (1968) au experimentat preparatul Azotobacterin la porumb, cartofi, varză şi roşii, fertilizînd cu gunoi de grajd şi îngrăşăminte minerale. Rezultatele obţinute sînt prezentate în tabelul 67.

Date mai vechi (Afanasieva şi Voronina, 1950; Zinovieva, 1954; Gheller şi Hariton 1953) afirmau că inocularea seminţelor cu *Azotobacter chroococcum* provoacă creşterea numărului de microorganisme din rizosferă. Clark (1948) şi Macura (1957) ajung însă la concluzii contrarii.

Alteori s-a arătat eficacitatea inoculării în combaterea unor microorganisme fitopatogene (Berezova şi colab., 1938; Trizno, 1954; Sidorov, 1954; Petrenko, 1958; Naumova, 1958). Mişustin (1970) a găsit în culturi de *Azotobacter* substanţe fungistatice de tipul conectinei.

Tabelul 67

Efectul Azotobacterinului în relaţie cu fertilizarea solului (după Brown şi colab., 1968

Tipul de cultură	Planta	Fertilizare	Producţia pe suprafaţa nebacterizată (t/ha)	Spor de recoltă prin bacterizare (%)
Culturi de cîmp	Porumb	Cu gunoi	5,47	33,4
		Minerală	5,50	12,7
	Cartofi	Cu gunoi	17,0	25,3
		Minerală	10,9	12,8
Legume	Varză	Cu gunoi	23,93	19,0
	Roşii	Cu gunoi	15,8	28,0

Scanned with OKEN Scanner

Brown şi colab. (1968) citează cazuri cînd cultura de *Azotobacter* a stimulat o specie de *Pseudomonas* cu proprietăţi antagoniste faţă de ciuperci ca : *Alternaria*, *Venturia*, *Sclerotina*, *Rhizoctonia* şi *Pythium*.

2.2. PREPARATE CU MICROORGANISME FOTOSINTETIZANTE FIXATOARE DE AZOT

Kobayashi şi Haque (1971) au arătat că bacteria *Rhodopseudomonas capsulatus* fixează azot, produce stimulatori de creştere şi descompune substanţele fitotoxice care se produc în mod natural în solurile foarte umede ale orezăriilor. Ca urmare sporeşte producţia de orez şi tomate.

Cercetătorul De (1936, 1939) a observat că în India recoltele de orez în monocultură, şi fără îngrăşăminte se menţin la un nivel ridicat. El a găsit în aceste orezării numeroase alge, printre care un procent ridicat de fixatoare de azot. Ca rezultat al acestor observaţii s-au deschis trei căi de folosire a azotului biologic în orezării :

— Folosirea asociaţiilor naturale de alge albastre fixatoare.

— Folosirea de biopreparate pe baza unor tulpini selecţionate.

— Folosirea în orezării a unor sisteme de cultură bazate pe *Azolla*.

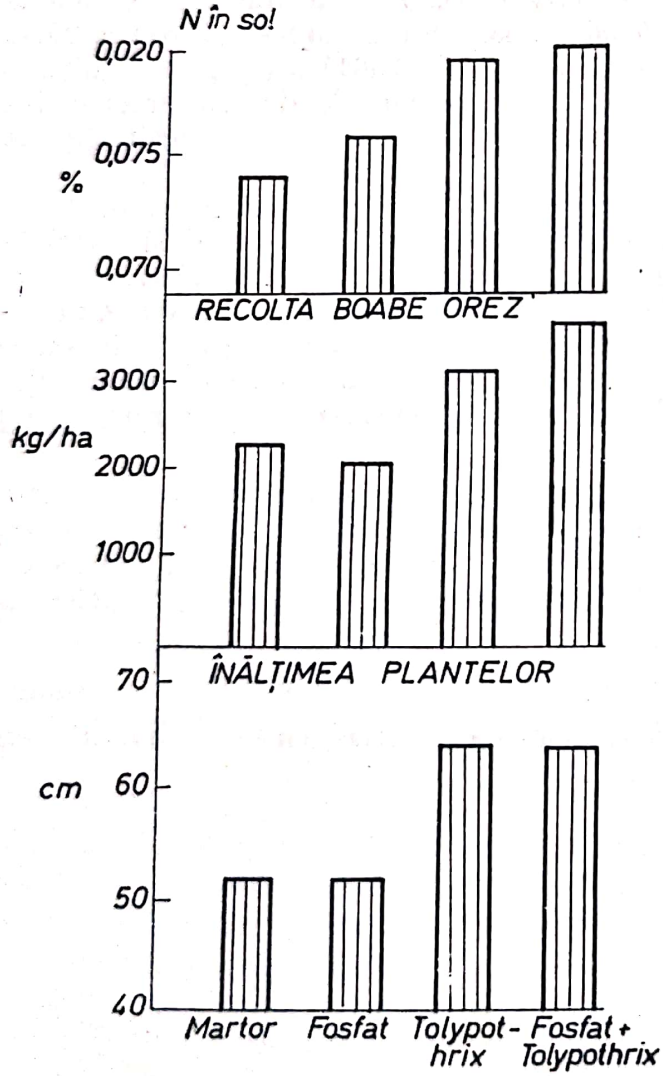


Fig. 68. Efectul inoculării solului cu alge din specia Tolypothrix tennuis (după Iha şi colab., 1963)

Watanabe (1951) a reuşit să obţină un preparat eficace folosind alga *Tolypotrix tennuis*. În prezent se folosesc în Japonia şi China preparate pe baza algelor. *T. tennuis* şi *Calothrix brevissima* (Muzafarov, 1967). Tot Watanabe (1959) a precizat condiţiile producerii şi aplicării preparatului. Sporurile obţinute la inoculare au crescut de la an la an : 2,7% în primul, 8,4% în al doilea, 19,1% în al treilea, 21,8% în al patrulea. Cercetătorii chinezi (Tin-ţian şi colab.,

1959), folosind un inocul pe bază de *Anabaena azotica* au obținut un spor mediu de producție de 13,5%. În India, folosirea unui inocul pe bază de *Aulosira fertilissima* a sporit recolta de orez cu 114—368% (S i n g h , 1961). Rezultatele obținute (J h a și colab., 1963) în aceeași țară cu *T. tennuis* (fig. 68) au arătat că această măsură sporește neîndoielnic recolta, probabil îmbogățește solul în azot și îi îmbunătățește structura. În general însă, în India se preferă stimularea asociațiilor naturale de alge din orezării.

În toate cazurile însă s-a lucrat în condiții de temperaturi ridicate (sub 10°C activitatea fixatoare încetează— G o r i u n o v a și O r l e a n s k i, 1967). Există însă și cianoficee care ar putea fi utilizate în condiții de climă temperată (Ș t i n a și colab., 1967).

În R. D. Vietnam se folosește în orezării *Azolla* ca îngrășământ verde. Aceasta prezintă particularitatea unui conținut ridicat de azot, ceea ce înseamnă la producția de masă verde ce se obține, un aport de 120—150 kg azot la hectar, în plus aducînd 30 kg la ha P_2O_5 și 72 kg ha calciu. Pe această cale producția de orez crește cu pînă la 90%. Conținutul ridicat de azot al acestei ferigi din familia *Filicinee* se explică (asemenea leguminoaselor) prin simbioza cu o algă fixatoare specifică (*Anabaena azollae*).

2.3. BIOPREPARATUL FOSFOROBACTERIN

Nu este nevoie de a aminti aici rolul fosforului în organismele vii, cele vegetale în speță. Trebuie să reamintim însă că acest element esențial pentru producția agricolă, se găsește în cantități mari în sol, dar sub forme neasimilabile de către plante. Transformarea fosforului în compuși asimilabili are loc în primul rînd sub acțiunea microorganismelor și a metaboliților lor.

M e n k i n a (1950) a propus activarea mineralizării compușilor organici cu fosfor din sol prin folosirea unor tulpini de *Bacillus megaterium* cu înaltă activitate fosfatazică. În perioada 1944—1952, în U.R.S.S. s-au întreprins aproximativ 200 experiențe în această direcție cu culturile acestei bacterii. Preparatul obținut de ea a fost denumit Fosfobacterin.

În țara noastră preparatul s-a produs pe baza unei tehnologii sovietice începînd din 1954 și a fost denumit Fosforobacterin. Din lipsa unor sporuri asigurate de recoltă producerea a încetat după cîțiva ani.

Experiențe pe scară mare, întreprinse în laborator, casa de vegetație și cîmp (la grîu, porumb, sfeclă de zahăr și spanac) de către F i e d l e r și D e e s b a c h (1956), în R.D.G., s-au soldat cu rezultate negative. Acești autori fac observația că poate preparatul ar da rezultate pe solurile virgine, bogate în substanță organică ușor de descompus. Încercările întreprinse în numeroase regiuni din S.U.A. s-au încheiat toate cu eșecuri. Într-un singur caz, S m i t h și B u r n s (1965) au obținut un spor de producție de 7,5% la roșii.

Trebuie să observăm similitudinea de rezultate cu Azotobacterinul: în acest caz însă posibilitatea de succes este și mai redusă, deoarece numărul bacteriilor cu biologia similară care pot concura cu succes inoculul bacterian este mare în sol. Rămîne și în acest caz deschisă problema

efectului auxinic al inoculului. Într-adevăr în experienţe începute în 1957, Butănescu şi Negreanu (1960), Fallot (1958, 1959), Fallot şi colab. (1966) au obţinut rezultate favorabile la viţa de vie.

2.4. BIOPREPARATUL SILICOBACTERIN

Rolul microorganismelor în circulaţia potasiului este mai puţin clar, dar numeroşi cercetători au arătat că bacteriile şi diatomeele pot solubiliza aluminosilicaţii, eliberînd acest element (Bassalik, 1913; Wright, 1922; Vernadsky, 1922; Vinogradov şi Boicenko, 1942).

În 1949, Aleksandrov a propus utilizarea în producţie agricolă a unei culturi de bacterii izolate din sol, capabilă a descompune aluminosilicaţii. După caractere, este probabil că *Bacillus mucilaginosus* ssp. *siliceus*, izolat de Aleksandrov, este identic cu specia descrisă în 1939 de Snieszko şi Kleczkowska. Culturile acestei bacterii, denumite Silicobacterin, au fost experimentate în U.R.S.S.

În ţara noastră acest preparat s-a produs numai cîţiva ani (1957—1962). Rezultatele folosirii sale nu au fost concludente.

Butănescu şi Negreanu (1960) prezintă unele rezultate care sugerează concluzia că bacteria ar produce heteroauxină şi giberelină.

2.5. ALTE SPECII DE MICROORGANISME FOLOSITE PENTRU CREŞTEREA PRODUCTIVITĂŢII PLANTELOR

Solurile acide prezintă mari deficienţe atît sub raportul chimismului cît şi al biologiei. Pentru remedierea lor, cercetătorii sovietici au propus folosirea a 250—1000 kg/ha turbă compostată cu var şi cu un complex de microorganisme amonificatoare, nitrificatoare, denitrificatoare, celulolitice, fixatoare de azot etc. Încercările făcute la Băneasa-Bucureşti, s-au soldat cu sporuri asigurate numai la roşii (9—12%).

2.6. CONSIDERAŢII ECOLOGICE PRIVIND POSIBILITATEA INOCULĂRII SOLULUI CU BACTERII UTILE

Problema introducerii în sol a unei culturi microbiene crescute în laborator, este o problemă ecologică dintre cele mai dificile, în condiţiile în care această cultură va avea de suportat concurenţa micoflorei naturale, perfect adaptată condiţiilor de viaţă concrete.

Capacitatea competitivă a unui microorganism depinde (Alexander, 1971) de o serie de proprietăţi ale acestuia, dintre care principale sînt:

— prezenţa în locul colonizabil la timpul optim (adică exact atunci cînd mediul este modificat într-un mod convenabil microorganismului dat). Această condiţie este îndeplinită (din punct de vedere al teoriei probabilităţii) cel mai bine de către microorganismele cu mare capacitate de înmulţire (ca de exemplu bacteriile din genul *Pseudomonas*);

Scanned with OKEN Scanner

— capacitatea de creştere rapidă (care influenţează cum am văzut şi indirect);

— capacitatea de a obţine toate elementele nutritive din solul dat. Cu cît elementele necesare metabolismului sînt mai puţine şi mai simple, cu atît mediul poate satisface mai uşor nevoile microorganismului. De aceea, microorganismele cu nutriţie minerală sînt mai competitive decît cele ce necesită substanţe organice complicate;

— capacitatea de supravieţuire la condiţii nefavorabile. Aceasta este mai mare la *Bacillaceae*, care formează spori;

— capacitatea organelor de rezistenţă de a germina şi prolifera rapid. Această calitate asigură succesul multor ficomicete în competiţia cu alte ciuperci din sol;

— capacitatea de a suporta mecanismele abiotice de rezistenţă ale mediului (pH, conţinut de săruri etc.);

— capacitatea de a învinge rezistenţa microorganismelor deja prezente în mediu;

— producerea unor structuri speciale de fixare pe suporturi de pe care alte organisme sînt eliminate. Acesta este cazul algelor ce trăiesc pe roci complet goale.

Recapitulînd, se poate spune că numărul de indivizi prin care o specie microbiană este prezentă în sol, reprezintă tocmai rezultanta proprietăţilor mai sus amintite (precum şi a altora în prezent mai puţin precizate).

Privitor la cultura microbiană ce serveşte ca inocul, vom arăta că ea trebuie să concureze pentru instalarea într-o nişă ecologică deja ocupată. Conform însă principiului lui Voltera-Gause, două specii cu proprietăţi similare nu pot coexista în aceeaşi nişă. Microorganismele din inocul le depăşesc pe cele similare lor numai cu o proprietate importantă din punct de vedere agronomic (capacitate înaltă de fixare a azotului), dar nu şi din punct de vedere ecologic. Ele nu au deci şanse de a dislocui bacteriile care ocupă deja nişa ecologică, ci cel mult de a supravieţui o perioadă oarecare de timp în jurul seminţei în germinare. Eklund şi Sinda (1971) au verificat acest fenomen pentru o specie de *Pseudomonas*, arătînd că supravieţuirea sa în sol nu trece de 8 săptămîni.

Alta este situaţia bacteriilor din genul *Rhizobium*, care sînt singurele ce pot pătrunde în interiorul plantelor leguminoase şi se dezvoltă fără concurenţă.

2.7. FOLOSIREA DE METABOLIŢI MICROBIENI PENTRU SPORIREA PRODUCTIVITĂŢII PLANTELOR

Dacă folosirea de culturi microbiene vii în scopul modificării echilibrului natural al unor medii este o problemă ecologică cvasiimposibilă, dimpotrivă, utilizarea în acest scop a unor substanţe produse de către microorganisme este foarte adesea încununată de succes. Se impune aci o paralelă cu cazul folosirii fenomenului de antibioză în combaterea bolilor microbiene la om şi animale: acest fenomen a fost observat şi preconizat ca armă de luptă, încă la începuturile microbiologiei de către

Scanned with OKEN Scanner

specialişti eminenţi ca Pasteur, Koch, Gamaleia, Babeş, Cantacuzino etc. Mai tîrziu fenomenul a foşt intens studiat de către Waksman, dar încercările făcute n-au dat rezultate datorită tendinţei de a folosi culturi vii de microorganisme antagoniste. La fel de ineficace s-a dovedit cura de iaurt (culturi de bacterii lactice) propusă de către Mecinikov. Numai cînd Fleming a avut intuiţia că efectul antimicrobian se leagă de o substanţă produsă în mediu de către microorganisme — în speţă penicilina — situaţia s-a schimbat radical. De atunci, medicina trăieşte o eră nouă, era antibioticelor, în care aspectul combaterii maladiilor infecţioase s-a schimbat radical.

În mod similar, utilizarea în agricultură a unor antibiotice obţinute de la ciuperci, actinomicete (în special) şi bacterii, nu prezintă dificultăţi. Rezultate foarte bune au fost obţinute de Krasilnikov (1962) în combaterea rîiei negre a cartofului, al cancerului microbian al pomilor etc.

În acelaşi mod se prezintă şi problema folosirii unor substanţe stimulatoare de creştere pentru sporirea producţiei agricole. În acest scop sînt larg răspîndite heteroauxinele şi giberelina, dar experienţele lui Krasilnikov, (1962), cu metaboliţi ai diferitelor microorganisme, sau Fallot şi Salacroup (1970), cu substanţe izolate din culturile de *Bacillus megaterium* şi *Pseudomonas fluorescens*, arată că posibilităţile sînt mult mai vaste.

Rezumînd toată experienţa acumulată pe plan mondial în această direcţie, Alexander, în tratatul său de„Ecologie microbiană" (1971) scrie: „Printre eşecurile încercărilor de a altera o comunitate heterogenă prin inoculări directe, cele mai cunoscute sînt următoarele:

a. aplicarea la sol sau semînţe a bacteriilor fixatoare de azot;

b. aplicarea la sol sau semînţe a tulpinilor de *Bacillus megaterium*;

c. inocularea în sol a microorganismelor producătoare de antibiotice sau litice, pentru a combate patogenii plantelor ce provin din sol;

d. cura cu lapte acidulat de *Lactobacillus* pentru a modifica flora intestinală a omului.

Unele succese au fost comunicate, dar ele sînt aşa de neobişnuite în raport cu eşecurile, încît trebuie considerate îndoielnice, transitorii sau marginale.

Adesea, inocularea cu unele organisme îşi joacă rolul. Astfel, patogenii plantelor inoculaţi în sol produc pagube, *Rhizobium* provoacă formarea nodozităţilor, algele albastre fixatoare de azot, se stabilesc neîndoielnic în orezării şi se pare că fixează azot şi sporesc recolta de orez Organismele astfel introduse, într-adevăr ocupă o nişă ecologică liberă".

Scanned with OKEN Scanner

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

Akawa, K. şi Hoda, K., 1973 — Weed Res. Jap., 15, 45—55.

Akopian, A. A., Avakian, B. P. şi Kalantarov A. A., 1974 — Himia v s.h., *12*, 7, 58.

Aleşin, S. N. şi Iudina, L. P., 1974 — Tr. 10 Mejd. Kongr. Pocivov., *3*, 211.

Alexander, M., 1971— ,,Microbial ecology" J. Willey and Sons, Inc. New-York, London, Sydney, Toronto.

Alexandrova, L. N., Zvereva, T. S. şi Fomin Iu. I., 1974 — Tr. 10 Mejd. Kongr. Pocivov., *2*, 57.

Anderson, F. N. şi Peterson, G. A., 1973 — Agron. J. *65*, 5, 697.

Antoniu, M. E. şi Orenski, S., 1960 — Comunic. Acad. R.P.R., *10*, 2, 159.

Ardakani, M. S., Rehbock, J. T. şi Mc Laren, A. D., 1974 — Soil Sci. Soc. Amer. Proc., *38*, 1, 96.

Arşidinov, A. A., Işin, M. M. şi Jarasov, S. U., 1974 — Himia v s.h., *12*, 2, 52.

Audus, L. J., 1964 — Physiology and Biochemistry of Herbicides. Ac. Pres. New-York and London.

Audus, L. J., 1970 — Med. Fak. Landbouw, Gent, *35*, 2, 465.

Balba, A. M. şi Sheta, T. H., 1973 — Plant Soil, *39*, 2, 361.

Balasubramanian, A. şi Rangaswami, G., 1973 — Folia Microb., *18*, 6, 492.

Bălan, N., 1970 — Microbiologie *1*, Lucrările Conf. Naţ. Microbiol. gen. şi aplic. 457, Bucureşti.

Bălan, N., Dincă, D., Galbenu, E., Munteanu, O. şi Tăbăranu, T., 1970— An. ICCPT — Fundulea, *36*, B, 595.

Bălan, N., Elena Galbenu, Lăcătuşu, R., 1973 — Probleme agricole, *25*, 4, 13.

Best, J. A., Weber, J. B. şi Weed, S. B., 1972 — Soil Sci., *114*, 6, 444.

Bezdicek, D. F., Mulford R. F. şi Magee B. H., 1974 — Soil Sci. Soc. Amer. Proc., *38*, 2, 268.

Biederbeck, V. O. şi Paul, E. A., 1973 — Soil Sci., *115*, 5, 357.

Bladel, van R, şi Moreale, A., 1974 — Soil Sci. Soc. Amer. Proc., *38*, 2, 243.

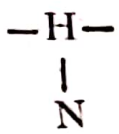
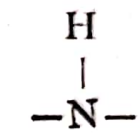
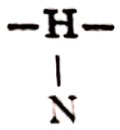
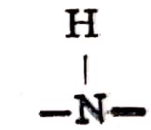
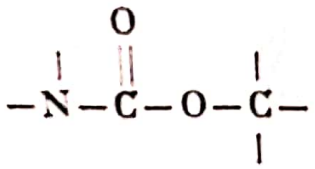
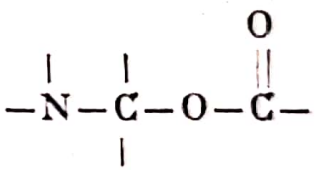
Bonnier, G., Brakel, J., 1969 — Lutte biologique contre la faim. Legumineuses--Rhizobium, ed. Duclot, s.a. — Gembloux.

Scanned with OKEN Scanner

Fang, S. C., 1971 — în „Degradation of Herbicides", P.C., Kearney and D. D., Kaufman ed., M., Dekker, New-York.
Farmer W. J. şi Aochi Y., 1974 — Soil Sci. Soc. Amer. Proc., *38*, 3, 418.
Flaig, W., 1968 — „Matière organique et fertilité du sol", Pontificae Academiae Scriptum Varia, 723.
Fletcher, W. W., Kirkwood, R. C. şi Smith D., 1970 — Med. Fak. Landbouw Gent., *35*, 2, 855.
Fournier J. C., Soulas G., şi Catroux G., 1973 — C.R., hebd. Séances. Ac. Sci. D., *276*, 22, 2993.
Freytag H. E. şi Igel H., 1972 — Symp. Biol. Hung., *11*, 167.
Fryer J. D. şi Evans, S. A., 1967 — Weed Control Handbook, Blackwell Scientific Publicaton, Oxford and. Edimburgh.
Galgoczy B., 1972 — Symp Biol. Hung, *11*, 237.
Galstian A. S., 1968 — în „Sbornik Dokladov Simpoziuma po Fermentam Pocivî", 24.
Găldean N., 1974 — Pesticidele şi echilibrul biologic al solului. Lucrare de specializare Univ. Bucureşti.
Geissbühler H. C. şi Voss, G., 1971 — „Fate of the Herbicides" (A.S., Tahori ed), Londra Butterworths., 343.
Gheorghiade V., Eliade G. şi Ghinea L., 1966 — Symp. on Soil Biology, Cluj, 165.
Ghinea L., 1964 — 8-th Int. Congr. of Soil Sci. Transactions, *3*, 857.
Ghinea, L., 1965 — Symp. Methods Soil Biol., Bucureşti, 181.
Ghinea L., 1966 — Influenţa unor erbicide aminotriazinice asupra activităţii microbiene a solului. Teză de doctorat Univ. Bucureşti.
Ghinea, L., 1973 — în „Consecinţele biologice ale poluării mediului" ed. Academiei. Bucureşti, 161.
Ghinea L. şi Caramete, C., 1970 — Probl. Agr. 11, 42.
Ghinea, L., Eliade, G., şi Gheorghiade V., 1965 — Symp. Methods. Soil Biol., Bucureşti, 19.
Ghinea, L., Eliade, G., Gheorghiade, V. şi Coşocariu O., 1966 — Symp. Soil. Biology., Cluj, 55.
Ghinea, L. şi Ghinea Elena., 1972 — Influenţa erbicidelor asupra metabolismului, CIDAS, Bucureşti.
Ghinea, L. şi Gheorghiade V., 1970 — Erbicidele în sol, CIDAS, Bucureşti.
Ghinea, L. şi Ştefanic, G., 1972 — 3-rd Symp. Soil. Biol. Bucharest, 139.
Goian, M., 1969 — Lucr. St. Inst. Agron. Timişoara, Ser. Agron., *12*, 489.
Goian, M., 1968 — Lucr. St. Inst. Argon. Tim'şoara, Ser. Agron, *11*, 139.
Gordienko, S. A, Gavriş I. N. şi Ivanko L. I., 1973 — Pocivovedenie, *11*, 138.
Goring C. A., 1962 — Soil Sci. *93*, 431.
Goring C. A., 1967 — Ann, Rev. Phytopath., *5*, 285.
Goring, C. A. I. şi Hamaker J. W., 1971 — Down to Earth, *27*, 1, 12.
Gournay X., de, 1971 — J. Et. Herb. Columa, *4*, 1.
Grabert D. şi Steinbrenner K., 1972 — Zbl. Bakt. Parasitenk. Inf. Krank. Hyg, *127*, 5, 471.
Grossbard, E., 1971 — Weed Res., *11*, 263.
Gunner, C. D., 1970 — Med. Fak. Landbouw., Gent., *35*, 2, 531.
Handra, M. şi Pop C., 1972 — An. ICCPT., *38*, B, 43.
Hayamo, K. şi Shiojima, M., 1974 — Tr. 10 Mejd. Congr. Pocivov., *2*, 136.

Scanned with OKEN Scanner

ERATĂ

Pag.:	Rînd.	În loc de:	Se va citi
52	formula		
52	formula		
165	tab. 16	NH_4SO_4	$(NH_4)_2SO_4$
247	formula a doua		
255	fig. 51	—	A — sol la 14,7% umiditate și 5°C B — sol incubat la 14,7% umiditate și 25°C C — sol incubat la 20% umiditate și 25°C

Scanned with OKEN Scanner

ÎN EDITURA „CERES“
VOR APARE:

ȘARPE N. Ș.A.
Erbicidele

MOȚOC M. Ș.A.
Eroziunea solului
și metodele
de combatere

RACZ G. LAZA A.
Plante medicinale
și aromatice

HULEA A. Ș.A.
Bolile și dăunătorii
cerealelor

BADEA I. Ș.A.
Cultura orezului

Scanned with OKEN Scanner

EDITURA „CERES“

Scanned with OKEN Scanner